輝点計測ソフト

G-Count

取扱説明書

G-Angstrom

目次

1 はじめに 4

1.1 ソフトウェアの概要 4
1.2 仕様 5
1.3 ご質問・お問い合わせについて 6

2 セットアップ 8

2.1 動作環境の確認 8
2.2 ソフトウェアのインストール、アンインストール方法 8
2.3 ハードウェア USB キーの挿入 11

3 基本的な使い方 13

3.1 輝点の計測方法 13
3.2 計測データの確認 21
3.3 追跡データの作成 25
3.4 追跡データの確認 27
3.5 データの保存 28

4 各部の機能 32

4.1 メニュー 32
4.2 ツールバー 44
4.3 パレット　Control 系 47
4.4 【動画】ウィンドウ 56
4.5 【Graph】パレット 58
4.6 【Histogram】パレット 60
4.7 【Trace Analysis】パレット 63

5 FAQ・トラブルシューティング 68

5.1 ハードウェア USB キー 68
5.2 輝点選択・計測 69
5.3 その他 72

1 はじめに

1 はじめに

本ドキュメントは、輝点計測ソフトウェア「G-Count」の取扱説明書です。本製品をご利用になる前にお読みください。

1.1 ソフトウェアの概要

「G-Count(ジーカウント)」は、1 分子観察等で得られた複数の単輝点の計測に必要な機能を備えている動画解析ソフトウェアです。二値化法、閾値法など の画像処理から、輝点カウント、Intensity などのデータ解析までの一連の作業を、G-Count で行うことができます。

重み重心を求めるアルゴリズム（重心解析モード）と、楕円にも対応した新開発の高速ガウシアンフィッティングアルゴリズム（ガウシアンフィッティングモー ド)、2 次元ガウシアンフィッティングアルゴリズム（2 次元ガウシアンフィッティングモード）によって、高速・高精度での全輝点自動計測が可能です。

特長

- 動画上の全ての輝点を計測し、1 フレーム毎の輝点数を自動計測。
- 輝点計測には、重み重心を求めるアルゴリズムと、新開発高速ガウシアンフィッティングアルゴリズム、2 次元ガウシアンフィッティングアルゴリズム、手動選択の 4 つを選択可能。計測の高速化をサポートする Speedy を搭載。
- 輝点の計測フレーム範囲を指定可能。
- 得られた輝点情報から連続点を探索し、追跡データに変換することができます。
- 全フレームにおける解析した全ての輝点を、1 枚の画像上に投射できます（解析点のスポット表示)。
- 輝点抽出の為に必要な画像処理を搭載。
- 輝点情報をデータベース化して保存することができるので、後に様々な解析に利用できます。
- 背景光によらず計算が可能なため、照明斑の影響を受けにくく、従来のような閾値法などの画像処理を必要としませ

ん（ガウシアンフィッティングモード）。

- 輝点の強度、輝点の広がり、位置など、輝点の持つすべての情報を取得することができます（ガウシアンフィッティングモード）。

パッケージ内容物

- CD－ROM
- ハードウェア USB キー（ドングル）
- 取扱説明書（本書）
- ライセンス許諾契約書

リリース履歴

製品機能の更新情報等、製品に関しての最新情報については、株式会社ジーオングストローム web サイトをご覧ください。

ご注意

本書で使用されている画像コピーの中には、現行バージョンの製品とは一部異なっている場合がございます。

ハードウェア USB キーに貼付されているシールは、絶対に剥がさないでください。

1.2 仕様

OS	Windows XP
CPU	Pentium Ⅲ以上を推奨 32bit を推奨
メモリ	320MB 以上の RAM を推奨
ハードディスク	7200rpm 以上の回転数を推奨
その他	National Instruments 社 LabVIEW ランタイムエンジン 8.2.1 SafeNet 社 Sentinel System ドライバ ※「G-Count」の動作に必要です。

1.3 ご質問・お問い合わせについて

ご質問される前に

株式会社ジーオングストロームでは、最新の製品サポート情報を Web サイトに公開しています。お問い合わせいただく前に、株式会社ジーオングストローム Web サイトをご利用ください。

http://www.g-angstrom.com

ご質問方法

株式会社ジーオングストロームでは、弊社製品をご利用のお客さまにサポートサービスを提供しています。お問い合わせの際は、Web サイトのお問い合わせフォームをご利用ください。

Copyright (c) 2008 G-Angstrom. All Rights Reserved.

Microsoft®、Windows®は、米国 Microsoft Corporation の、米国、日本およびその他の国における登録商標または商標です。
Pentium は、米国およびその他の国における、Intel Corporation またはその子会社の商標または登録商標です。
National Instruments 、 NI 、 LabVIEW は 、 NationalInstruments Corporation（米国ナショナルインスツルメンツ社）の商標です。
Sentinel は、米国 SafeNet 社の商標です。
その他、本ドキュメントに記載されている各社の社名、製品名およびサービス名は、各社の商標または登録商標です。

2 セットアップ

2 セットアップ

セットアップに必要な環境、インストールやアンインストールの方法

2.1 動作環境の確認

本書 1.2 の仕様をご確認いただき、動作環境の確認を行ってください。

2.2 ソフトウェアのインストール、アンインストール方法

「G-Count」のインストール

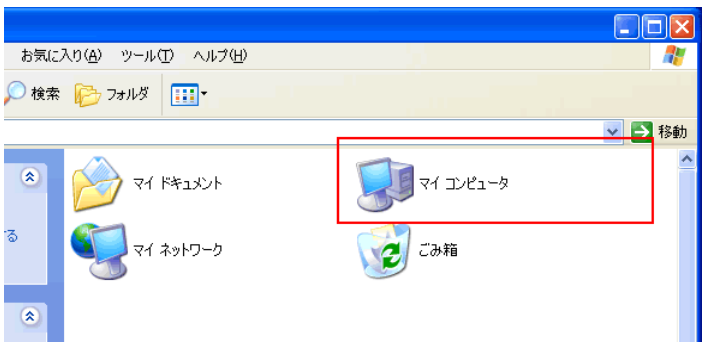
本ソフトウェアをインストールするには、次の手順に従ってください。

1　CD-ROM を挿入します

CD-ROM ドライブに、本ソフトウェアデータディスクを挿入します。

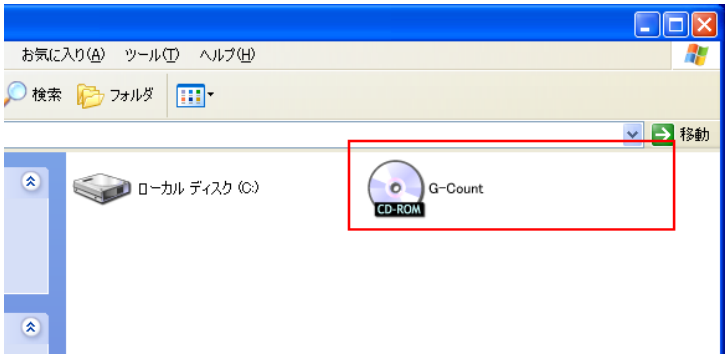
2　マイコンピュータを開きます

［スタート］ボタン→［すべてのプログラム］→［アクセサリ］から［エクスプローラ］を選択して［マイコンピュータ］をダブルクリックします。



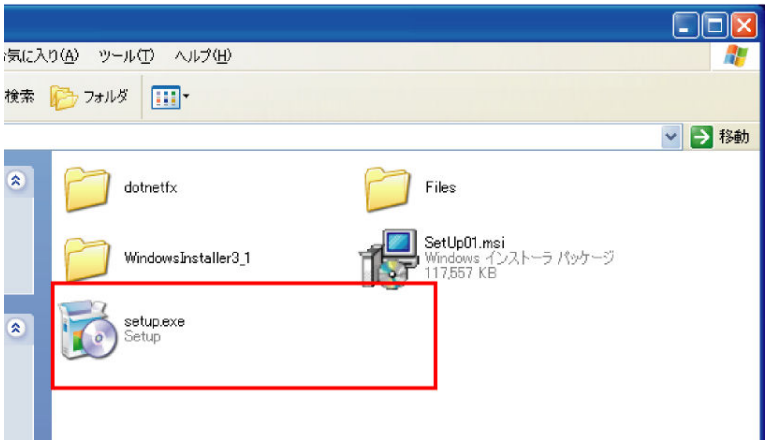
3　CD-ROM を開きます

CD-ROM ドライブに、G-Count と表示されているのを確認してダブルクリックします。



4　setup.exe を起動

ファイルの一覧から、setup.exe をダブルクリックします。画面の指示に従ってインストールを行います。

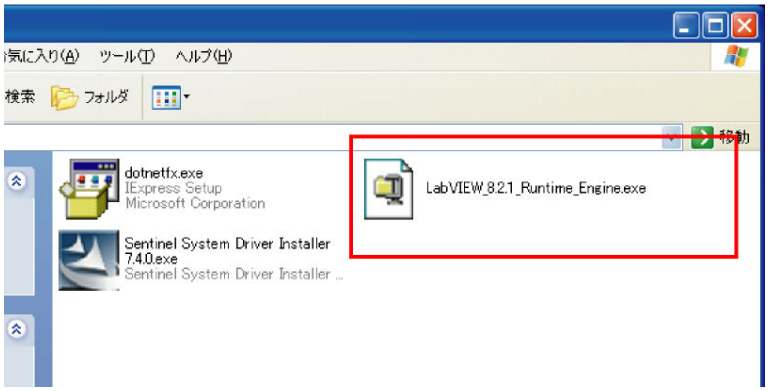


完了後、デスクトップへ［GCount へのショートカット］のアイコンが表示されます。

※インストール時には、ハードウェア USB キー（ドングル）を PC から取り外してください。
※G-Count の使用には Microsoft® .NET Framework Version 2.0 が必要です。ご使用の PC にインストールされていない場合、ファイルの一覧から、[Files]フォルダをダブルクリックし、dotnetfx.exe をダブルクリックします。Microsoft® .NET Framework Version 2.0 を画面の指示に従ってインストールを行います。

5　LabVIEW Runtime Engine のインストール

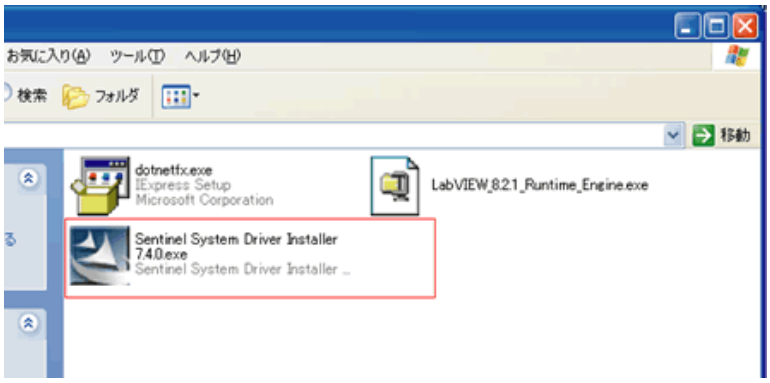
ファイルの一覧から、[Files]フォルダをダブルクリックし、LabVIEW_8.2.1_Runtime_Engine.exe をダブルクリックします。LabVIEW ランタイムエンジンを画面の指示に従ってインストールを行います。



※インストール時には、ハードウェア USB キー（ドングル）を PC から取り外してください。

6　Sentinel System Driver のインストール

ファイルの一覧から、Files フォルダをダブルクリックし、Sentinel System Driver Installer 7.4.0.exe をダブルクリックします。画面の指示に従ってインストールを行います。



※インストール時には、ハードウェア USB キー（ドングル）を PC から取り外してください。

「G-Count」のアンインストール

本ソフトウェアをアンインストールするには、次の手順に従ってください。

1　「スタート」→「プログラムのアクセスと既定の設定」→「プログラムの変更と削除」を選択してください。

※お使いのコンピュータに現在インストールされているプログラムの一覧が表示されます。

2　『G-Count』を選択して、削除してください。

※必要に応じて、作成したショートカットや関連付け設定を削除してください。

2.3 ハードウェア USB キーの挿入

付属のハードウェア USB キー(ドングル)は、ソフトウェアのインストールを全て行った後に PC に挿入してください。

※挿入されていない場合、ソフトウェアを正常に起動することはできません。
※ハードウェア USB キー(ドングル)に貼付されているシールは絶対に剥がさないでください。
※インストール時にはハードウェア USB キー（ドングル）を PC から取り外し、setup.exe　と　Sentinel System Driver Installer 7.4.0.exe　をインストール後に再度挿入してください。

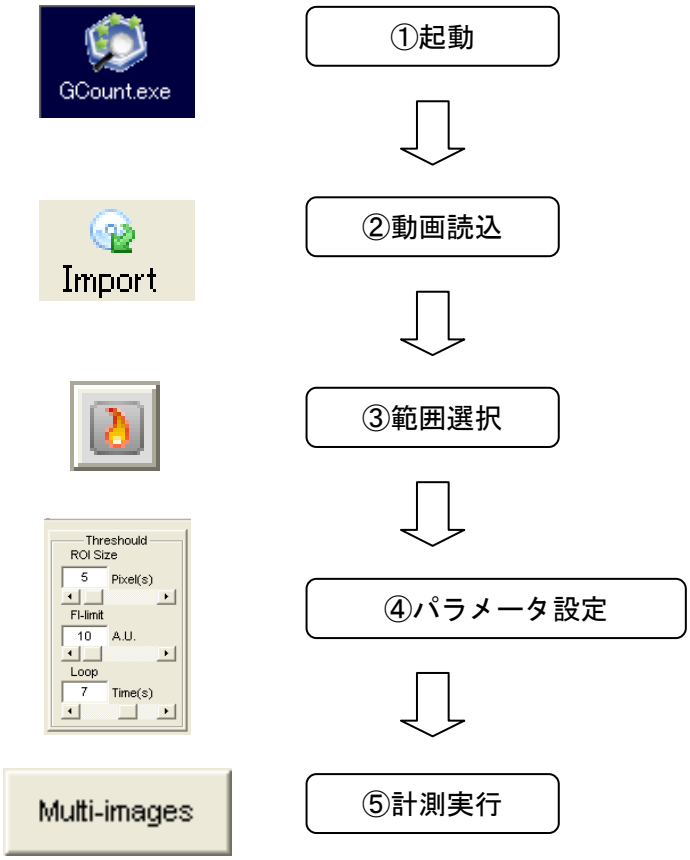
3 基本的な使い方

3 基本的な使い方

「G-Count」の起動方法、基本的な使い方

3.1 輝点の計測方法

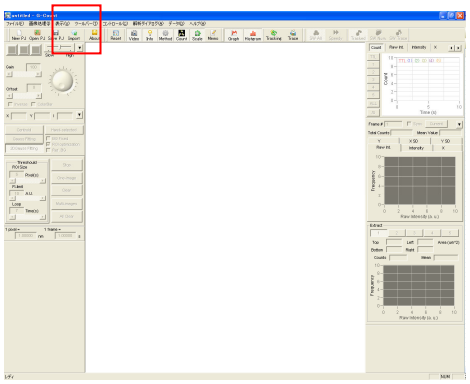
基本的な操作の流れ



操作手順　計測準備

1　「G-Count」を起動します。

G-Count アイコンをダブルクリックします。



2　動画をインポート(読込)します。

［ファイル］メニューから［AVI ファイルのインポート］を選択し、動画ファイルをインポートします。

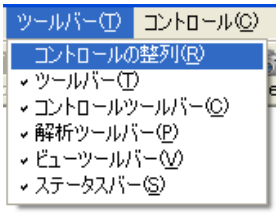
POINT

読込可能なファイル形式は非圧縮 AVI 形式です。

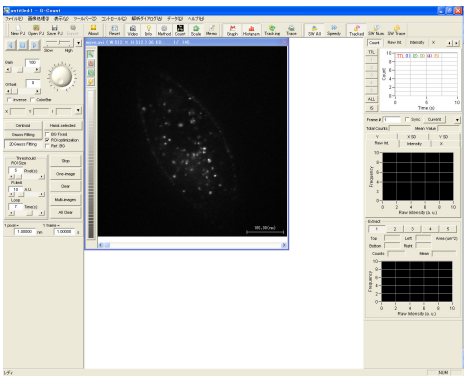
POINT

■コントロールの整列

[ツールバー]メニュー→[コントロールの整列]をクリックすると、パレットが整列して表示されます。



操作手順　範囲選択



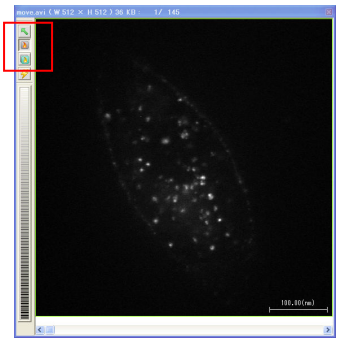
輝点の選択方法は２種類あります。

方法１　全ての範囲を指定する方法

方法２　部分的に指定する方法

※範囲指定をしただけでは、計測はおこなわれません。

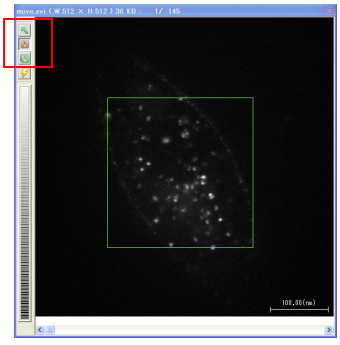
選　択　方　法



方法１　【ダブルクリックで全範囲指定】

①[動画ウィンドウ]の［自動輝点選択］ボタンをクリックします。

②［動画ウィンドウ］上でダブルクリックすると、全ての範囲を選択します。

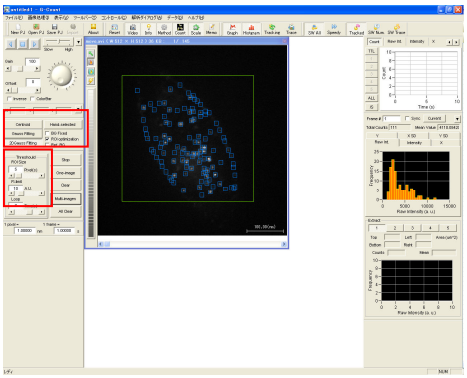


方法２　【ドラッグで部分指定】

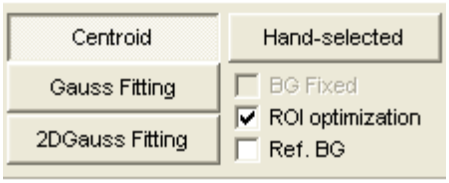
①[自動輝点選択]ボタンをクリックします。

②左ドラッグして、[動画ウィンドウ］の任意の範囲を選択します。

操作手順　パラーメータ設定



アルゴリズムの選択



輝点認識のアルゴリズムを下記から選択します。

・Centroid

・Gaussian Fitting

・2D Gaussian Fitting

・Hand-selected

POINT

最適アルゴリズムが不明な場合は、Centroid を選択し、先に Threshold を設定します。

アルゴリズム選択の目安

■Centroid

背景と輝点の明度差が大きく、輝点が円でない場合に使用します

■Gaussian Fitting

背景と輝点の明度差が少ないが、輝点が明るく明らかな場合に使用します

■2D Gaussian Fitting

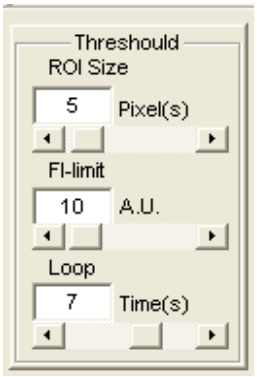
背景と輝点の明度差が少ないが、輝点がノイジックな場合や正確性をあげたい場合に使用します

■Hand-selected

手動でデータを記録します

アルゴリズム	Centroid	Gaussian Fitting	2D Gaussian Fitting	Hand-selected
輝点認識	重心位置の輝度	ＸＹ平面投影図利用	二次元ガウス関数	手動（マウス操作）
特徴	・計算が単純 ・理想輝点でなくても、重心位置を計算できる ・ノイズが多い場合に精度が低く、ROI の大きさ、背景光で解が変化する	・楕円形輝点近似に優位 ・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能 ・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能 ・ノイズに弱い	・高精度で解析可能 ・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能 ・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能 ・反復法であるため、計算に時間を有する	・マウスでクリックしたポイントを記録 ・認識できない輝点も記録可能
背景光の影響	×	○	○	○
輝点形状	○	○	△	○
計算速度	○	△	×	×
ノイズ	×	△	○	○
位置精度	△	○	○	×
採用基準	背景と輝点の明度差が大きく、輝点が円でない場合	背景と輝点の明度差が少ないが、輝点が明るく明らかな場合	・背景と輝点の明度差が少ないが、輝点がノイジックな場合 ・正確性をあげたい場合	任意の位置を自由に記録したい場合

Threshold の設定



［ROI Size］スクロールバー

輝点検索や輝点計測の際に ROI サイズを設定します。ROI Size が n の場合、ROI の一辺の大きさは(2n+1)となります。ROI は Region Of Interest を意味します。
ROI サイズは、輝点の大きさに合わせて設定して下さい。計測できない場合には、ROI を大きく設定して下さい。

［FI-limit］スクロールバー

輝点検索や輝点計測の際に検出する蛍光強度の閾値を設定します。FI は Fluorescence Intensity を意味します。

［Loop］スクロールバー

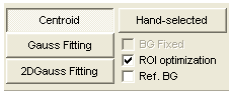
ガウシアンフィッティングアルゴリズムの最大反復計算回数を設定します。設定した最大反復計算回数内に解が収束しない場合は輝点の追跡を停止します。

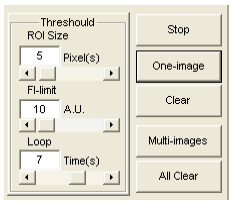
POINT

ROI サイズは、輝点の大きさに合わせて設定して下さい。計測できない場合には、ROI を少しずつ大きくしながら試行して下さい。

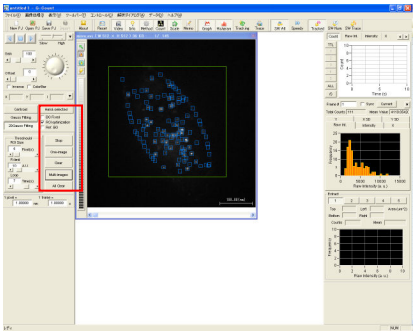
POINT

最適なパラメータの探索には、処理速度の速い Centroic アルゴリズム＋One-image で大まかに行い、その後アルゴリズムを変更しながら調整します。





操作手順　計測



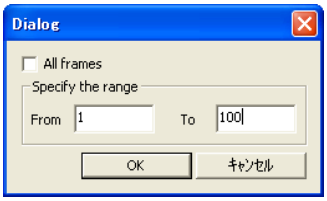
輝点を計測してデータを記録します。

※記録できる計測データ数は最大で 999 です。

計　測　方　法

■方法 1　表示フレームのみ計測

【One Image ボタンで計測】
輝点選択後に［One Image］ボタンをクリックして、インポートした動画のうち表示されているフレームのみを計測します。

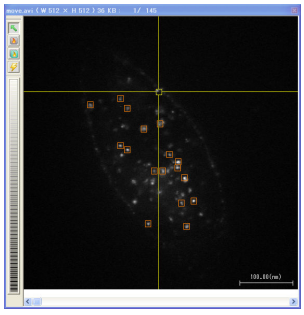


■方法 2　複数フレーム計測

【Multi-images ボタンで計測】

輝点選択後に、[Multi-images] ボタンを押して、ダイアログボックスで指定したフレームを全て計測します。

※［All frames］チェックボックスオン時、インポートした動画の全フレームを計測します。チェックボックスオフ時、指定したフレームを全て計測します。



■方法 3　手動で計測

［手動輝点選択ボタン］+【左ドラッグ+右クリック】

①[動画ウィンドウ]の［手動輝点選択］ボタンをクリックします。

②［動画ウィンドウ］上で、左ドラッグしながらカーソルを動かし、輝点上で右クリックして、輝点を選択します。選択と同時に自動

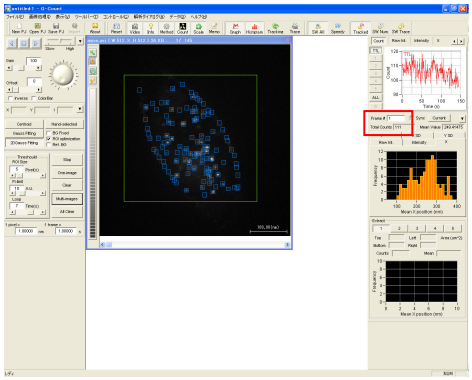
的にデータが登録されます。

※アルゴリズムが輝点と認識しない場合は選択されません。

※［Hand-selected］を選択した場合は、左ドラッグ＋右クリックした場所が無条件で輝点として扱われます。

3.2 計測データの確認

各計測データの表示方法



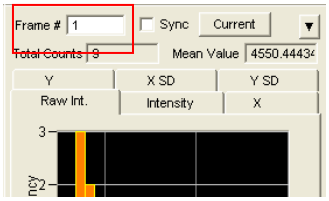
フレームの変更

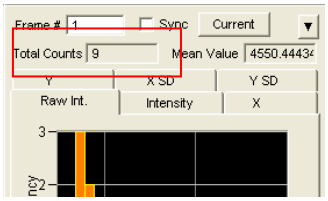
［Histogram］パレットの[Frame #]テキストボックスに動画のフレームナンバーを入力します。指定したフレームのデータが表示されます

POINT

■［Histogram］ボタン

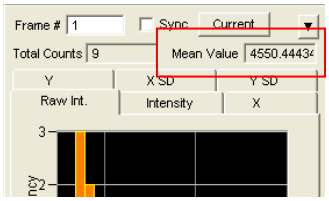
［Histogram］パレットを表示します。





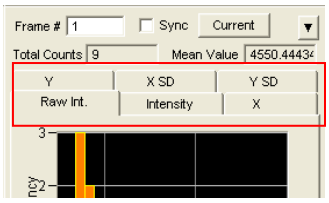
カウント数の確認

［Histogram］パレットの[Total Counts]ラベルで選択したフレームナンバーの総輝点数を確認します。



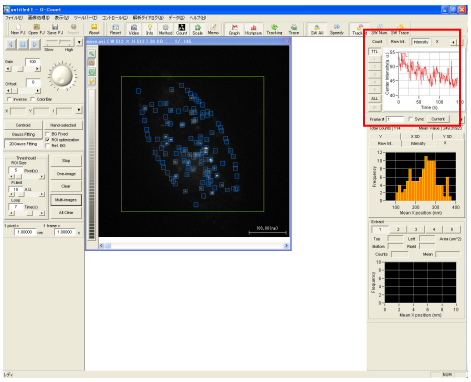
平均値の確認

［Histogram］パレットの[Mean Value]ラベルで選択したフレームナンバーの平均値を確認します。



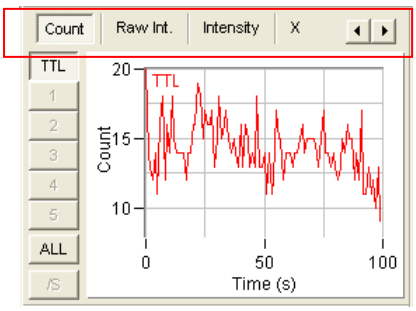
Single Image グラフの切り替え

[Histogram] パレットの[Single Image グラフ]タブをクリックして[Single Image メイングラフ]を切り替えることができます。



時間変化グラフの切り替え

[Graph] パレットの[時間変化グラフ]タブをクリックして[時間変化グラフ]を切り替えることができます。



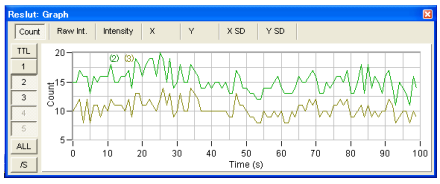
POINT

■ [Graph] ボタン

[Graph] パレットを表示します。

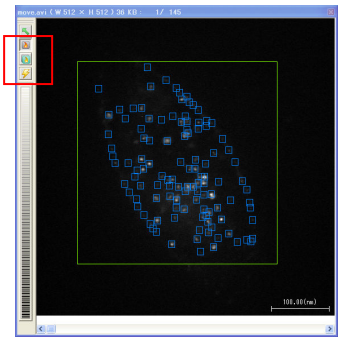
POINT

[Graph] パレットはウィンドウ内の何もない場所にドラッグして float 状態にした後に、サイズの変更が可能です。



任意の XY 範囲を指定して表示する方法

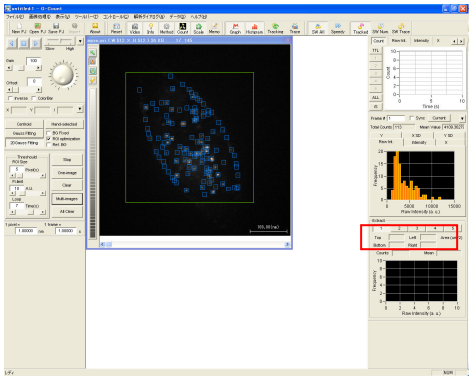
輝点計測後、計測した範囲内の任意の範囲を選択することで、細かい範囲の輝点計測データを確認できます。



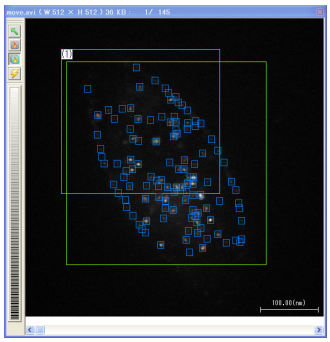
①[動画ウィンドウ]の[輝点抽出]ボタンをクリックします。

POINT

■［輝点抽出］ボタン

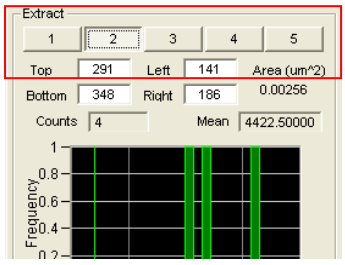


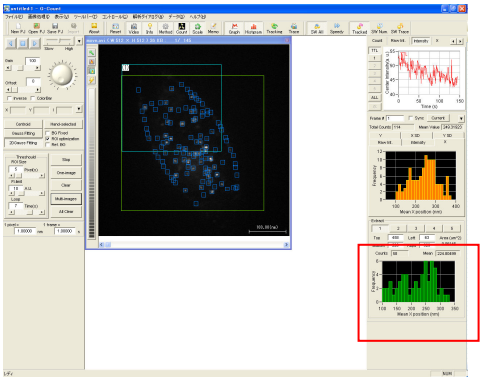
②［Histogram］パレットの[1-5]ボタンの任意のボタンをクリックします。



③[動画ウィンドウ]上で左ドラッグして、任意の範囲を選択します。

※計測した範囲内で、2 つ以上の計測データ群を抽出する場合は、[Histogram] パレットの[1-5]ボタンを切り替え、[動画ウィンドウ]上で左ドラッグして、任意の範囲を選択します。

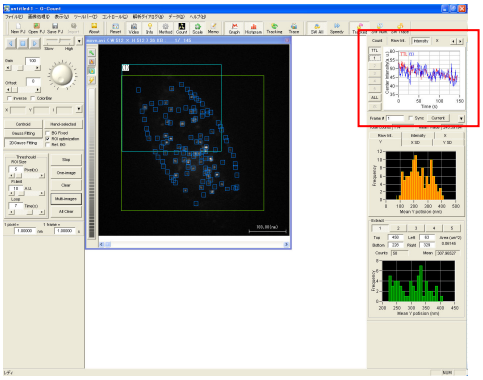




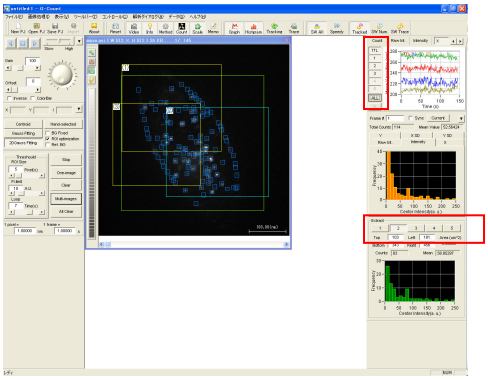
④任意の範囲の計測データが[Extract グラフ]に表示されます。

POINT

[Histogram]パレットの[Single Image グラフ]タブをクリックして[Extract グラフ]を切り替えることができます。



⑤［Graph］パレットに抽出した範囲の[時間変化グラフ]が表示されます。

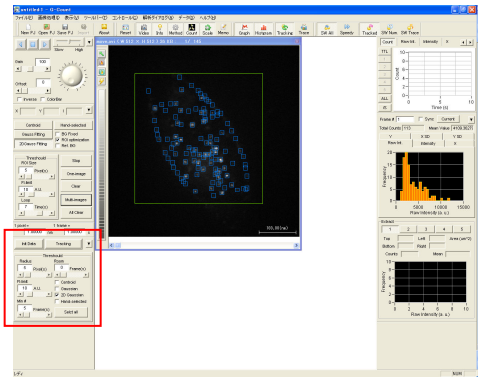


⑥抽出したデータ群が複数の場合は、［Histogram］パレットの[1-5]ボタン、［Graph］パレットの[1-5]ボタンで表示させたいデータ群の番号をクリックします。

※［Graph］パレットの[1-5]ボタンの任意のボタンを再度クリックするとグラフを非表示にできます。

3.3 追跡データの作成

計測したデータから追跡データを作成することができます。

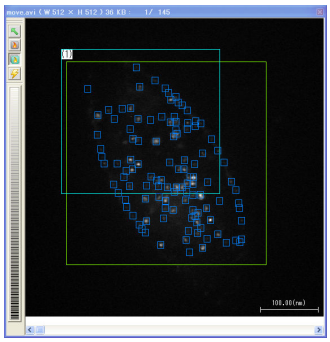


① [Tracking Control] パレットで追跡アルゴリズムと各パラメータを設定します。

POINT

■ [Tracking] ボタン

[Tracking Control] パレットを表示します。

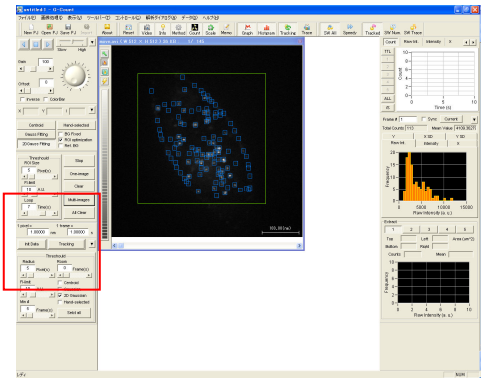


②[動画ウィンドウ]の［輝点抽出］ボタンをクリックし、左ドラッグで任意の範囲を指定します。

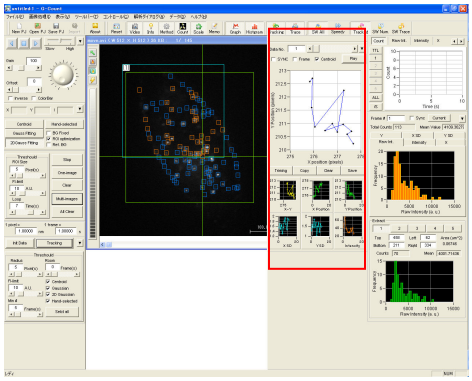
POINT

■ ［輝点抽出］ボタン

※輝点計測を行った範囲内の追跡データのみ取得されます。



③ [Tracking Control] パレットの [Tracking] ボタンをクリックします。



④［Trace Analysis］パレットに追跡データが作成されます。

※輝点計測を行った範囲内の追跡データのみ作成されます。

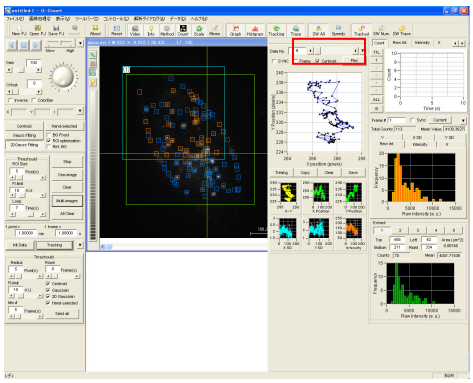
POINT

■［Trace］ボタン

［Trace Analysis］パレットを表示します。

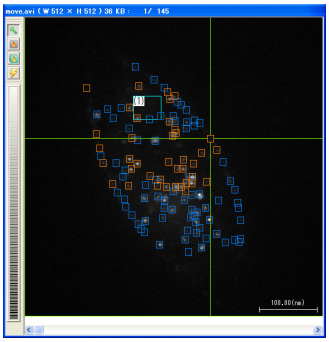
3.4 追跡データの確認

表示する輝点データの指定



[Data No.]で指定

[Trace Analysis] パレットの[Data No.]スクロールバーを操作して、グラフを表示させたい追跡データのデータナンバーを選択します。

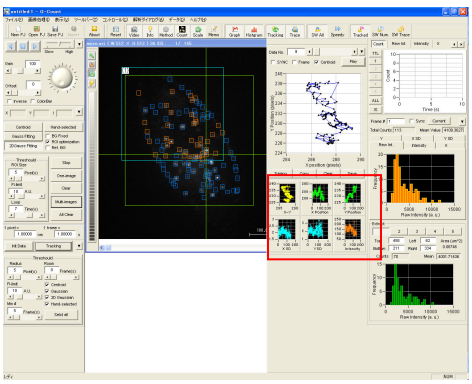


動画ウィンドウで指定

①[追跡確認]ボタンをクリックします。

②[動画ウィンドウ]で、オレンジ色の ROI をクリックします。

グラフの切り替え



[Trace Analysis] パレットの[サブグラフ]をダブルクリックして[メイングラフ]を切り替えます。

POINT

■グラフを拡大表示

メイングラフでドラッグすると、指定した範囲を拡大表示します。

3.5 データの保存

保存できるデータは下記のとおりです。

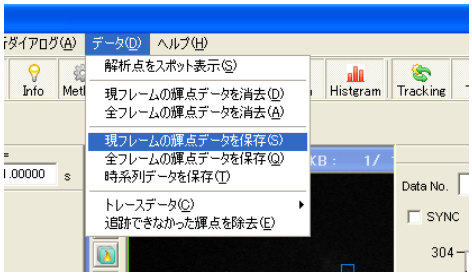
・計測データ（表示フレーム、全フレーム）

・追跡データ（任意の輝点、全輝点）

・画像データ（.bmp 形式）

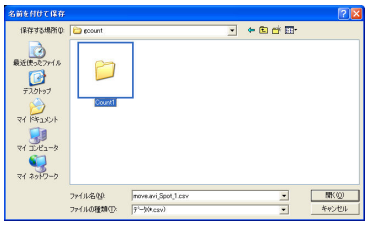
・G-Count プロジェクト（.gcpx 形式）

計測データの保存～表示中のフレーム～



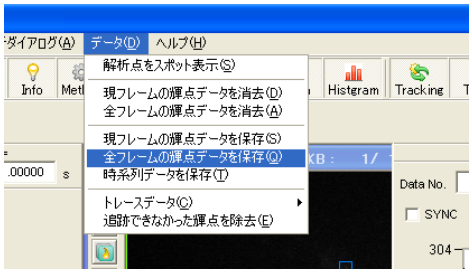
①[データ]メニューを選択します。

②[現フレームの輝点データを保存]を選択します。



③保存ダイアログボックスに従って、CSV 形式で保存します。

計測データの保存～全フレーム～



①[データ]メニューを選択します。

②下記のいずれかを選択します。

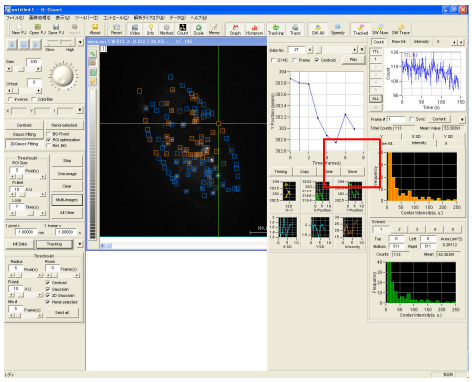
[全フレームの輝点データを保存]

各輝点データをフレーム毎に別のファイルで保存します。

[時系列データを保存]

全フレームのデータを一つのファイルに保存します

追跡データの保存～単一輝点データ～

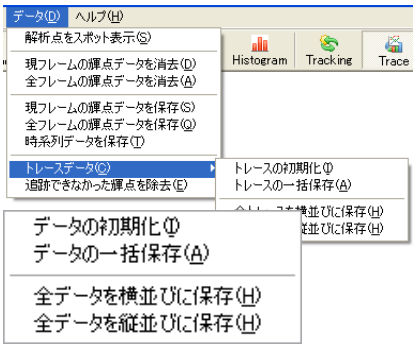


①[DataNo.]テキストボックス r を修正し、保存したい輝点データを表示します

② [Trace Analysis] パレットの[Save]ボタンをクリックして保存します。

保存データ項目
Data No.
Frame No.
X Position(pixels)
Y Position(pixels)
X SD(pixels)
Y SD(pixels)
Intensity(A.U.)

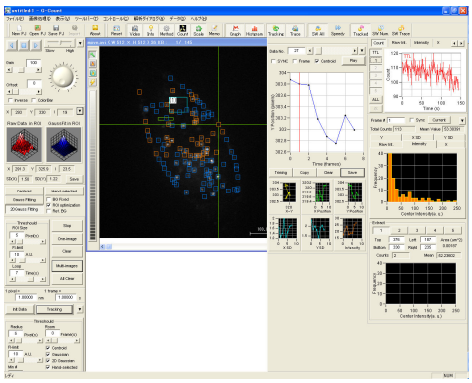
追跡データの保存～全輝点～



[データ] メニュー→[トレースデータ]から目的に応じて選択します。

全輝点データ保存方法の種類
【トレースの一括保存】 全データを輝点毎に別ファイルで保存します 【全トレースを横並びに保存】 全データを横並びに保存します。 【全トレースを縦並びに保存】 全データを縦並びに保存します。

画像の保存

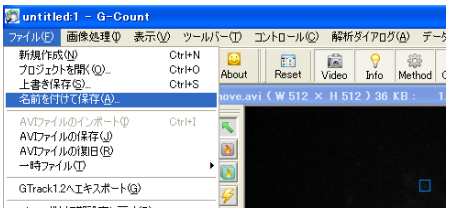


画像上で右クリックします。右クリックした画像をビットマップ形式(.bmp)で保存します。

ビットマップ形式で保存できる画像

[Raw Data in ROI]
[GaussFit in ROI]
[Single Image グラフ]
[Extract グラフ]
[X-Y Position グラフ]
[X Position グラフ]
[Y Position グラフ]
[X SD グラフ]
[Y SD グラフ]
[Intensity グラフ]
[時間変化グラフ]
[動画ウィンドウ]
※[サブグラフ]は保存できません。

プロジェクトの保存

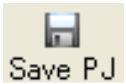


[ファイル]メニューから[名前を付けて保存]を選択します。

POINT

■プロジェクトの保存

[Save PJ] ボタンをクリックします。



4 各部の機能

4 各部の機能

メニュー、ツールボタン、マウス操作時の機能

4.1 メニュー

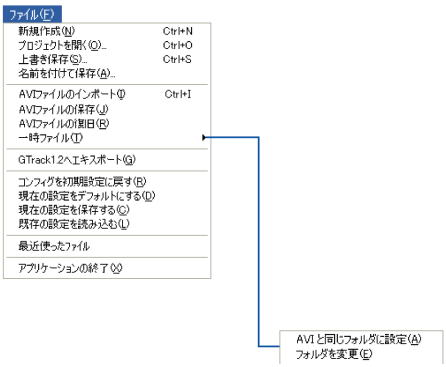
4.1.1 ［ファイル］メニュー

ショートカットキー

■メニュー選択

[Alt]+[アルファベット]キーでメニューを選択できます。アルファベットはメニュー名の右にカッコ書きで記されています。

Ex.[ファイル]→[新規作成(N)]の場合、[Alt]+[F]→[N]



［新規作成］

プロジェクトファイル（拡張子.gcpx）を新規作成します。

［プロジェクトを開く］

プロジェクトファイル（拡張子.gcpx）を開きます。

［上書き保存］

解析しているプロジェクトをプロジェクトファイル（拡張子.gcpx）に上書き保存します。

［名前を付けて保存］

解析しているプロジェクトに名前を付けてプロジェクトファイル（拡張子.gcpx）に保存します。

［AVI ファイルのインポート］

動画ファイルをインポートします。

［AVI ファイルの保存］

表示している動画を保存します。

［AVI ファイルの復旧］

画像処理を行った AVI ファイルを、インポート時の状態

に戻します。

[G-Track1.2 へエキスポート]

解析しているプロジェクトを G-Track1.2（拡張子.gtp）形式にエキスポートします。

[コンフィグを初期設定に戻す]

現在のパラメータ設定を初期設定に戻します。

[現在の設定をデフォルトにする]

現在のパラメータ設定をデフォルトに設定します。

[現在の設定を保存する]

現在のパラメータ設定をコンフィグファイル（拡張子.cfg）に保存します。

[既存の設定を読み込む]

保存したパラメータ設定をコンフィグファイル（拡張子.cfg）から読み込みます。

※読み込んだパラメータ設定は、コンフィグファイル（拡張子.cfg）読込後、プロジェクトを新規作成すると適応されます。

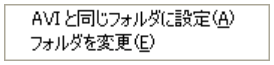
[最近使ったファイル]

最近使ったプロジェクトファイル（拡張子.gcpx）を開きます。

[アプリケーションの終了]

G-Count を終了します。

4.1.1.1 [一時ファイル] メニュー



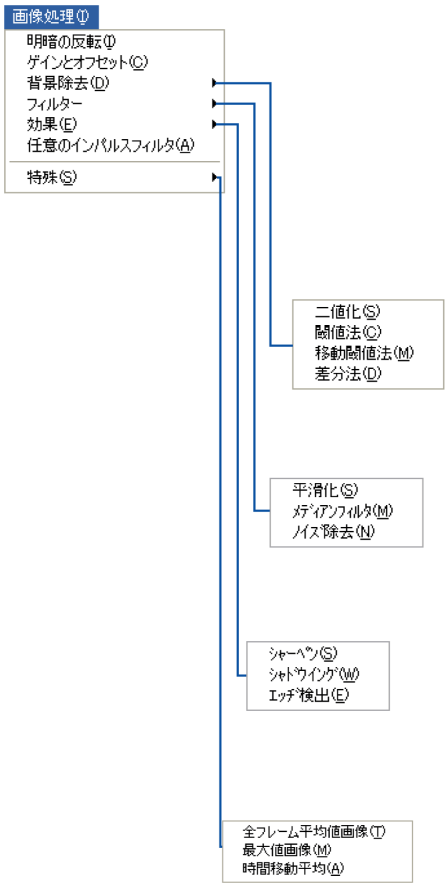
[AVI と同じフォルダに設定]

一時ファイルをインポートした動画ファイル(AVI ファイル)と同じフォルダに作成します。

[フォルダを変更]

一時ファイルを作成するフォルダを指定の場所へ変更します。

4.1.2　［画像処理］メニュー



［明暗の反転］

動画の明暗を反転します。

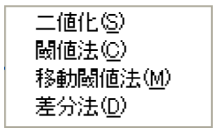
［ゲインとオフセット］

動画のゲインとオフセットを調整します。ゲイン値とオフセット値を設定することができます。

［任意のインパルスフィルタ］

自ら作成したフィルターを利用できます。窓の大きさは、「3」で固定されています。

4.1.2.1 ［背景除去］メニュー



［二値化］

閾値と値を設定することにより、画像の輝度を二値化します。

［閾値法］

閾値より小さな値は、「0」とする処理を行います。

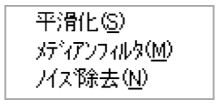
［移動閾値法］

ウィンドウを走査しながら、動的に閾値を設け、二値化します。背景斑がある場合に有効です。窓の大きさと閾値を設定することができます。

［差分法］

平滑化した画像(ローパス処理した画像)を元画像から差し引くことで背景光を除去します。窓の大きさを設定することができます。

4.1.2.2 ［フィルター］メニュー



［平滑化］

画像を平滑化します。窓の大きさを設定することができます。

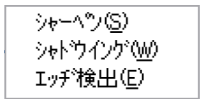
［メディアンフィルタ］

ウィンドウを走査し、ウィンドウ内の中央値（最大値と最小値の中間の値）を表示します。窓の大きさを設定することができます。

［ノイズ除去］

ウィンドウの中央値を誇張しながら、平滑化を行います。強度（強→弱）を設定することができます。窓の大きさは、「3」で固定されています。

4.1.2.3　［効果］メニュー



［シャーペン］

隣接するピクセルのコントラストの差を強めることでシグナルを強調します。強度（強→弱）を設定することができます。窓の大きさは、「3」で固定されています。

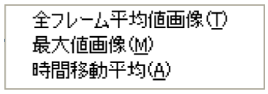
［シャドウイング］

光が当たっているような視覚効果を示すフィルターです。光の照射方向（右→左）を設定することができます。

［エッヂ検出］

画像のエッヂ部分を強調する効果を示すフィルターです。強度（強→弱）を設定することができます。

4.1.2.4　［特殊］メニュー



［全フレーム平均値画像］

インポートした動画の、全てのフレームを足し合わせた画像を作成します。輝点の滞在時間を明るさとして表現し、画像化できるツールです。
※画像上で右クリックすることで、[クリップボードにコピー]、［BMP 画像として保存］ができます。

［最大値画像］

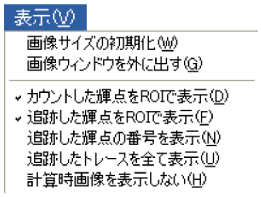
それぞれのピクセルに全フレームにおけるピクセル最大値を表示した画像を作成します。輝点の運動軌跡を画像化できるツールです。

※画像上で右クリックすることで、[クリップボードにコピー]、［BMP 画像として保存］ができます。

［時間移動平均］

指定したフレーム数毎に平均化された動画を作成します。フレーム数を設定することができます。

4.1.3　［表示］メニュー



［画像サイズの初期化］

動画ウィンドウのサイズを初期化します。

［画像ウィンドウを外に出す］

動画ウィンドウを別ウィンドウで表示します。

［カウントした輝点を ROI で表示］

カウントした輝点を青色の ROI で表示します。

［追跡した輝点を ROI で表示］

追跡した輝点をオレンジ色の ROI で表示します。

［追跡した輝点の番号を表示］

追跡した輝点のデータナンバーを表示します。

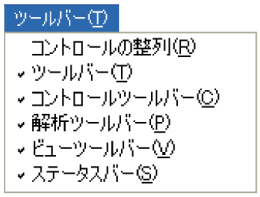
［追跡したトレースを全て表示］

追跡した輝点のトレース画像を表示します。

［計算時画像を表示しない］

単輝点計測の場合に、画像表示を行わないことにより、計算速度を改善します。また、複数輝点を自動検索する場合には、検索過程の画像表示を行わないことにより、計算速度を改善します。

4.1.4　［ツールバー］メニュー



［コントロールの整列］

各ウィンドウや各バーを整列させます。

［ツールバー］

ツールバーを表示します。

[コントロールツールバー]

コントロールツールバーを表示します。

[解析ツールバー]

解析ツールバーを表示します。

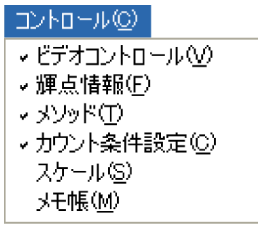
[ビューツールバー]

ビューツールバーを表示します。

[ステータスバー]

ステータスバーを表示します。

4.1.5 ［コントロール］メニュー



[ビデオコントロール]

［Video Control］パレットを表示（非表示）します。

[輝点情報]

［Info Control］パレットを表示（非表示）します。

[メソッド]

［Method Control］パレットを表示（非表示）します。

[カウント条件設定]

［Count］パレットを表示（非表示）します。

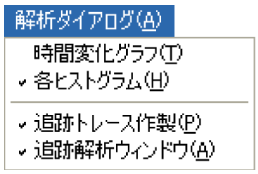
[スケール]

［Scale Control］パレットを表示（非表示）します。

[メモ帳]

［Memo］パレットを表示（非表示）します。

4.1.6　［解析ダイアログ］メニュー



［時間変化グラフ］

［時間変化グラフ］を表示（非表示）します。

［各ヒストグラム］

［Single Image グラフ］、［Extract グラフ］を表示（非表示）します。

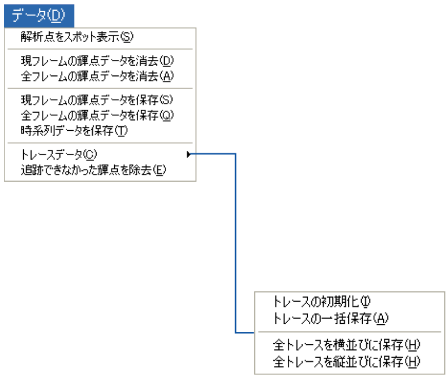
［追跡トレース作製］

［Tracking Control］パレットを表示（非表示）します。

［追跡解析ウィンドウ］

［Trace Analysis］パレットを表示（非表示）します。

4.1.7　［データ］メニュー



［解析点をスポット表示］

取得した解析データより、輝点の所在フレームナンバーを示す画像データを表示します。輝点の所在フレームが前半だと赤色に近く、後半だと青色に近いグラデーションで表示されます。

※輝点計測を元に表示します。全フレーム、全範囲の［スポット表示画像］を取得する場合は、全フレーム、全範囲の輝点計測を行ってください。

※［スポット表示画像］上で右クリックすることで、［ス

ケールバーの表示/非表示]、[クリップボードにコピー]、[BMP 画像として保存] ができます。

[現フレームの輝点データを消去]

表示されているフレームの計測データを消去します。

[全フレームの輝点データを消去]

全フレームの計測データを消去します。

[現フレームの輝点データを保存]

表示されているフレームの計測データを保存します。

[全フレームの輝点データを保存]

全フレームの計測データを保存します。

※記録されるデータ

・Area No

Area No は、表示されているデータの輝点抽出範囲(Total,1,2,3,4,5)を示します。

・Method

Method は、計測時に用いたアルゴリズムを示します。
(1= Centroid,2= Gauss Fitting,3= 2DGauss Fitting,0= Hand-selected)

・Raw Intensity (a. u.)

Raw Intensity は、ROI 内の全ての Intensity 値の合計値を示します。

・Center Intensity(a. u.)

Center Intensity は、選択アルゴリズムが Gauss Fitting,2D Gauss Fitting の場合はガウス分布の Intensity のピーク値を示し、選択アルゴリズムが Centroid の場合には ROI 中心の値から背景光を差し引いた値を示します。

・X Position(nm)

X Position(nm)は、各輝点の重心位置の X 座標位置を示します。(Hand-Selected 使用時、ROI の中心の値となります)

・Y Position(nm)

Y Position(nm)は、各輝点の重心位置の Y 座標位置を示します。(Hand-Selected 使用時、ROI の中心の値となります)

・X SD(nm)

X SD(nm)は、PSF(点像分布関数 : Point Spread Function)の X 軸方向の SD(標準偏差)を示します。Centroid,HandSelected 使用時は、ダミー値として一定値が入ります。

・Y SD(nm)

Y SD(nm)は、PSF(点像分布関数 : Point Spread Function)の Y 軸方向の SD(標準偏差)を示します。Centroid,HandSelected 使用時は、ダミー値として一定値が入ります。

[時系列データを保存]

時系列データを CSV 形式で保存します。

※記録されるデータ

・Time

時系列データのキー値を示します

※フレームナンバーから 1 を引いた値になります。

・Area No

Area No は、表示されているデータの輝点抽出範囲(Total,1,2,3,4,5)を示します。

・Count

計測された輝点数を示します。

・Raw Intensity (a. u.)

Raw Intensity の平均値を示します

Raw Intensity は、ROI 内の全ての Intensity 値の合計値を示します。

・Center Intensity(a. u.)

Center Intensity の平均値を示します

Center Intensity は、選択アルゴリズムが Gauss Fitting,2D Gauss Fitting の場合はガウス分布の Intensity のピーク値を示し、選択アルゴリズムが Centroid の場合には ROI 中心の値から背景光を差し引いた値を示します。

・Mean X position (nm)

X Position の平均値を示します

X Position(nm)は、各輝点の重心位置の X 座標位置を示します。(Hand-Selected 使用時、ROI の中心の値となります)

・Mean Y potision (nm)

Y Position の平均値を示します

Y Position(nm)は、各輝点の重心位置の Y 座標位置を示します。(Hand-Selected 使用時、ROI の中心の値となります)

・Mean X SD (nm)

X SD の平均値を示します

X SD(nm)は、PSF(点像分布関数 : Point Spread Function)の X 軸方向の SD(標準偏差)を示します。Centroid,HandSelected 使用時は、ダミー値として一定値が入ります。

・Mean Y SD (nm)

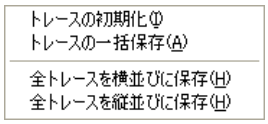
Y SD の平均値を示します

Y SD(nm)は、PSF(点像分布関数 : Point Spread Function)の Y 軸方向の SD(標準偏差)を示します。Centroid,HandSelected 使用時は、ダミー値として一定値が入ります。

[追跡できなかった輝点を除去]

追跡した輝点以外の ROI 表記を非表示にします。

4.1.7.1 ［トレースデータ］メニュー



[トレースの初期化]

記録された追跡データ全てを初期化（削除）します。

[トレースの一括保存]

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、Y Position(pixels)、X SD(pixels)、Y SD(pixels)、Intensity(A.U.)）を一括で保存します。

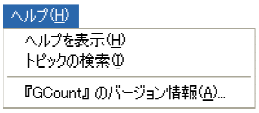
[全トレースを横並びに保存]

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、 Y Position(pixels)、 X SD(pixels)、 Y SD(pixels)、 Intensity(A.U.)）を 1 つのファイル内に横並びに保存します。

［全トレースを縦並びに保存］

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、 Y Position(pixels)、 X SD(pixels)、 Y SD(pixels)、 Intensity(A.U.)）を 1 つのファイル内に縦並びに保存します。

4.1.8 ［ヘルプ］メニュー



［ヘルプを表示］

ヘルプを表示します。

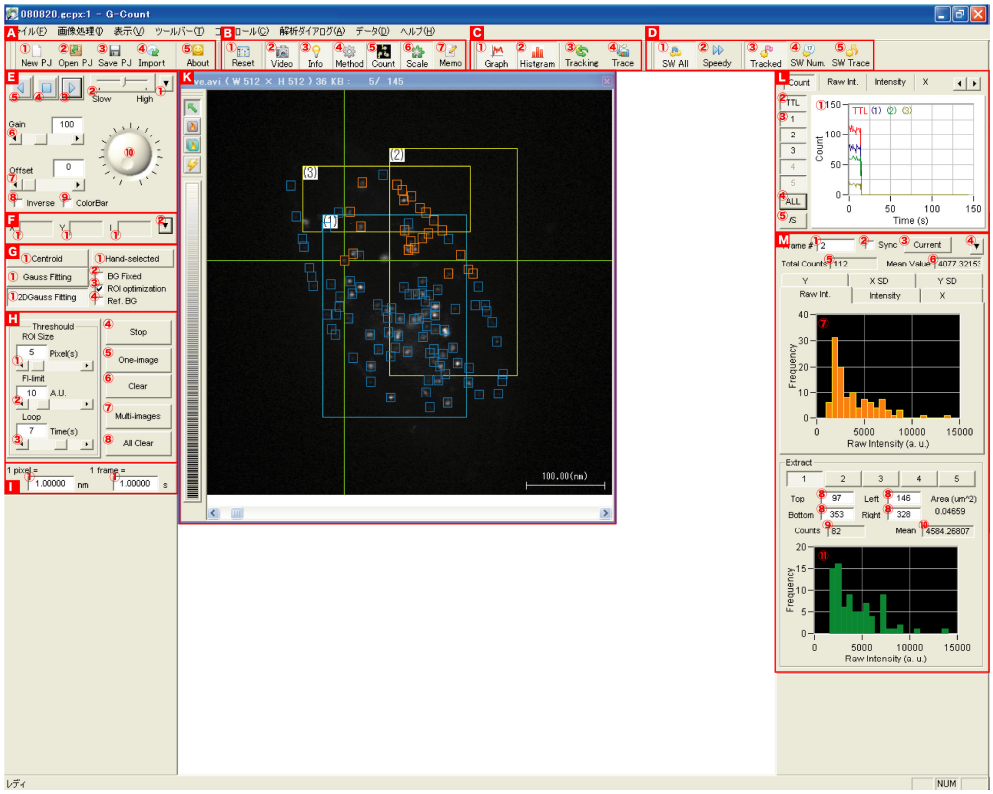
［トピックの検索］

トピックを検索します。

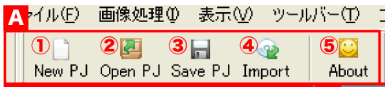
［『GCount』のバージョン情報］

「G-Count」のバージョン情報を表示します。

4.2 ツールバー



4.2.1 【標準ツールバー】



① [New PJ] ボタン

プロジェクトファイル（拡張子.gcpx）を新規作成します。

② [Open PJ] ボタン

プロジェクトファイル（拡張子.gcpx）を開きます。

③ [Save PJ] ボタン

解析しているプロジェクトをプロジェクトファイル（拡張子.gcpx）に保存します。

④ [Import] ボタン

動画ファイルをインポートします。

⑤ [About] ボタン

「G-Count」のバージョン情報を表示します。

4.2.2 【コントロールツールバー】

① [Reset] ボタン

各ウィンドウや各パレットを整列させます。

② [Video] ボタン

[Video Control] パレットを表示（非表示）します。

③ [Info] ボタン

[Info Control] パレットを表示（非表示）します。

④ [Method] ボタン

[Method Control] パレットを表示（非表示）します。

⑤ [Count] ボタン

[Count] パレットを表示（非表示）します。

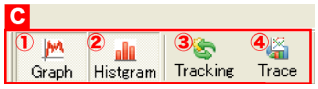
⑥ [Scale] ボタン

[Scale Control] パレットを表示（非表示）します。

⑦ [Memo] ボタン

[Memo] パレットを表示（非表示）します。

4.2.3 【解析ツールバー】



① [Graph] ボタン

[Graph] パレットを表示（非表示）します。

② [Histogram] ボタン

[Histogram] パレットを表示（非表示）します。

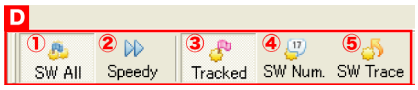
③ [Tracking] ボタン

[Tracking Control] パレットを表示（非表示）します。

④ [Trace] ボタン

[Trace Analysis] パレットを表示（非表示）します。

4.2.4 【ビューツールバー】



①［SW All］ボタン

カウントした輝点を青色の ROI で表示します。

②［Speedy］ボタン

単輝点計測の場合に、画像表示を行わないことにより、計算速度を改善します。また、複数輝点を自動検索する場合には、検索過程の画像表示を行わないことにより、計算速度を改善します。

③［Tracked］ボタン

追跡した輝点をオレンジ色の ROI で表示します。

④［SW Num.］ボタン

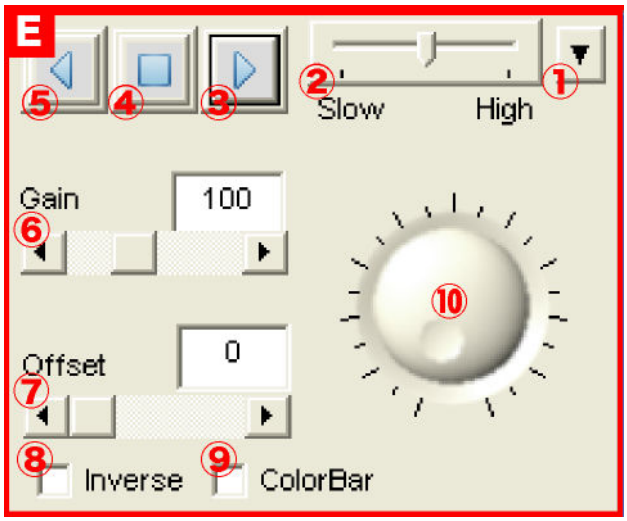
追跡した輝点のデータナンバーを表示します。

⑤［SW Trace］ボタン

追跡した輝点のトレース画像を表示します。

4.3 パレット　Control 系

4.3.1 【Video Control】パレット



①［▼］ボタン

［GAIN］スクロールバー、［OFFSET］スクロールバー、［INVERSE］チェックボックス、［COLORBAR］チェックボックス、［VIDEO CONTROL］ダイヤルを表示（非表示）します。

②［スピードコントロール］スライダ

動画の再生速度を Slow・High・中間の三段階で設定します。

③［再生］ボタン

動画を繰り返し再生します。

④［停止］ボタン

動画の再生を停止します。

⑤［逆再生］ボタン

動画を繰り返し逆再生します。

⑥［GAIN］スクロールバー

動画のゲイン値を調節します。

※インポートした動画の、[動画ウィンドウ]への描画パラメータを設定します。輝点計測時、及び解析時の値に影響はありません。

⑦［OFFSET］スクロールバー

動画のオフセット値を調節します。

※インポートした動画の、[動画ウィンドウ]への描画パ

ラメータを設定します。輝点計測時、及び解析時の値に影響はありません。

⑧［INVERSE］チェックボックス

チェックボックスオン時、動画の明暗を反転します。

※インポートした動画の、[動画ウィンドウ]への描画パラメータを設定します。輝点計測時、及び解析時の値に影響はありません。

⑨［COLORBAR］チェックボックス

チェックボックスオン時､動画の明暗を色相で表します。

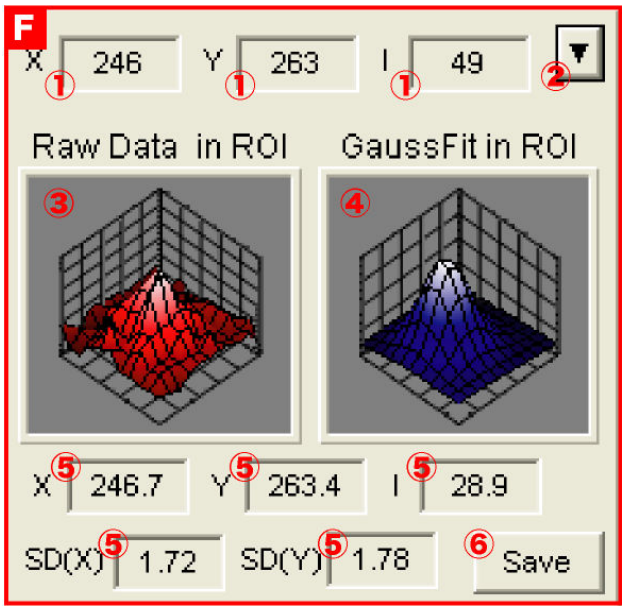
※インポートした動画の、[動画ウィンドウ]への描画パラメータを設定します。輝点計測時、及び解析時の値に影響はありません。

⑩［VIDEO CONTROL］ダイヤル

[動画ウィンドウ]で表示されているフレーム位置を、ダイヤルを操作して移動します｡動画は 2 ダイヤルにつき、1 フレーム移動します。

※インポートした動画の、[動画ウィンドウ]への描画パラメータを設定します。輝点計測時、及び解析時の値に影響はありません。

4.3.2 【Info Control】パレット



①[X]、[Y]、[I]ラベル

動画の画像データから、黄色 ROI 中心の X 座標(X)、Y 座標(Y)、蛍光強度(I)を取得し、表示します。

②［▼］ボタン

［Raw Data in ROI］3D グラフ、［GaussFit in ROI］3D グラフ、[X]、[Y]、[I]ラベル、[SD(X)]、[SD(Y)]ラベル、[save]ボタンを表示（非表示）します。

③［Raw Data in ROI］3D グラフ

[動画ウィンドウ]上黄色 ROI 内の X,Y,I を 3D 表示します。

④［GaussFit in ROI］3D グラフ

[動画ウィンドウ]上黄色 ROI 内の X,Y,I をガウシアンフィッティングした結果を 3D 表示します。［GaussFit in ROI］3D グラフは、ROI 内の画像がガウシアンフィッティング出来ない場合は表示されません。

⑤[X]、[Y]、[I]ラベル、[SD(X)]、[SD(Y)]ラベル

動画の画像データから、黄色 ROI 内のガウシアンフィティングにより得られたパラメータ（X 座標(X)、Y 座標(Y)、蛍光強度(I)、X 座標標準偏差（SD(X)）、Y 座標標準偏差（SD(Y)）を取得し、表示します。ROI 内の画像がガウシアンフィッティング出来ない場合は表示されません。

⑥［save］ボタン

［Raw Data in ROI］3D グラフ［GaussFit in ROI］3D グラ

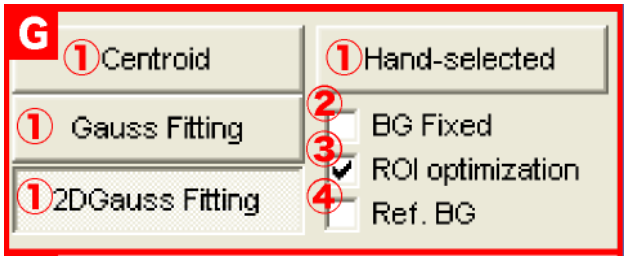
フのＸ座標、Ｙ座標、蛍光強度データ(X,Y,I)を保存します。［GaussFit in ROI］3D グラフのデータは、ROI 内の画像がガウシアンフィッティング出来ない場合は保存できません。

4.3.3 【Info Control】パレット 3D グラフ上でのマウス操作

［右クリック］

［Raw Data in ROI］3D グラフ、［GaussFit in ROI］3D グラフに表示されている画像をビットマップ形式(.bmp)で保存します。

4.3.4 【Method Control】パレット



①［アルゴリズム］選択ボタン

輝点計測の際に使用するアルゴリズム(Centroid、Gauss Fitting、2DGauss Fitting、Hand-selected)を切り替えます。ガウス分布に従わない輝点にガウシアンフィッティングを用いた場合(［Gauss Fitting］[2DGauss Fitting]選択時)、位置精度が下がる場合がありますのでご注意ください。

各アルゴリズムの特徴・採用基準の目安は下記のとおりです。

■Centroid

〇アルゴリズム解説

・重心位置における中心の輝度を閾値として、輝点か否かを判断

〇特徴

・計算が簡単である為、処理速度が速い

・理想輝点でなくても、重心位置を計算できる

・ノイズが多い場合に精度が低く、ROI の大きさ、背景光で解が変化する

〇採用基準

・背景と輝点の明度差が大きく、輝点が円でない場合

■Gaussian Fitting

〇アルゴリズム解説

・ＸＹ平面それぞれにおける投影図を利用し、重心位置を計算

〇特徴

・楕円形輝点近似に優位

・処理速度が速い

・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能

・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能

・ノイズに弱い

〇採用基準

・背景と輝点の明度差が少ないが、輝点が明るく明らかな場合

■2D Gaussian Fitting

〇アルゴリズム解説

・二次元ガウス関数で近似

〇特徴

・高精度での解析可能

・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能

・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能

・反復法であるため、計算に時間を有する

〇採用基準

・背景と輝点の明度差が少ないが、輝点がノイジックな場合

・正確性をあげたい場合

■Hand-selected

手動でデータを記録します。

②［BG Fixed］チェックボックス

［Gauss Fitting］、［2DGauss Fitting］選択時に使用できま

す。チェックボックスオン時、背景光のパラメータを固定し、計算速度を改善します。

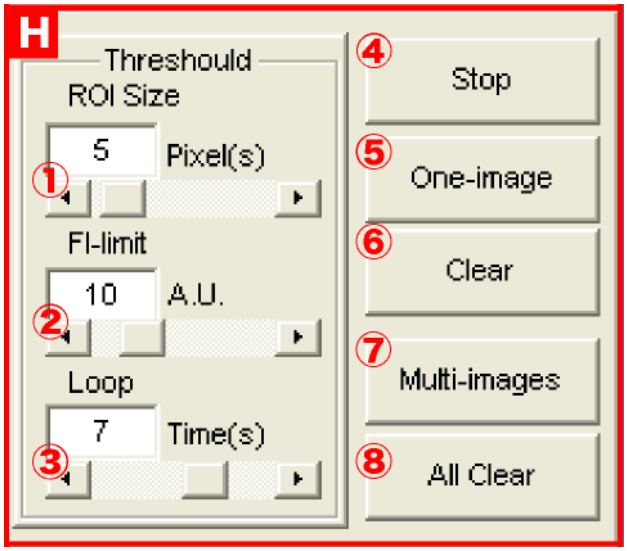
③［ROI optimization］チェックボックス

チェックボックスオン時、ROI の位置を最適化することにより、輝点の誤認識確率を改善します。

④［Ref.BG］チェックボックス

チェックボックスオン時、ガウシアンフィッティングにより得られたバックグラウンド値を排除して蛍光強度を求めます。BG は、Back Ground を意味します。

4.3.5 【Count】パレット



①［ROI Size］スクロールバー

輝点検索や輝点計測の際に ROI サイズを設定します。ROI Size が n の場合、ROI の一辺の大きさは(2n+1)となります。
ROI は Region Of Interest を意味します。
ROI サイズは、輝点の大きさに合わせて設定して下さい。
計測できない場合には、ROI を大きく設定して下さい。

②［FI-limit］スクロールバー

輝点検索や輝点計測の際に検出する蛍光強度の閾値を設定します。FI は Fluorescence Intensity を意味します。

③［Loop］スクロールバー

ガウシアンフィッティングアルゴリズムの最大反復計算回数を設定します。設定した最大反復計算回数内に解が収束しない場合は輝点の追跡を停止します。

④［Stop］ボタン

インポートした動画の計測を中止します。

⑤［One image］ボタン

インポートした動画のうち表示されているフレームのみを計測し、計測データを記録します。

⑥［Clear］ボタン

記録した計測データのうち、表示されているフレームの計測データのみを削除します。

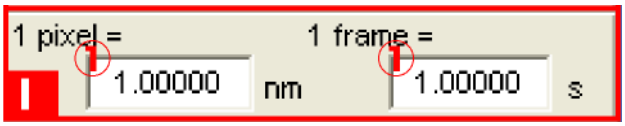
⑦［Multi-images］ボタン

インポートした動画のうち指定したフレームを全て計測し、計測データを記録します。
※［All frames］チェックボックスオン時、インポートした動画の全フレームを計測します。チェックボックスオフ時、指定したフレームを全て計測します。

⑧［All Clear］ボタン

記録した計測データを全て削除します。

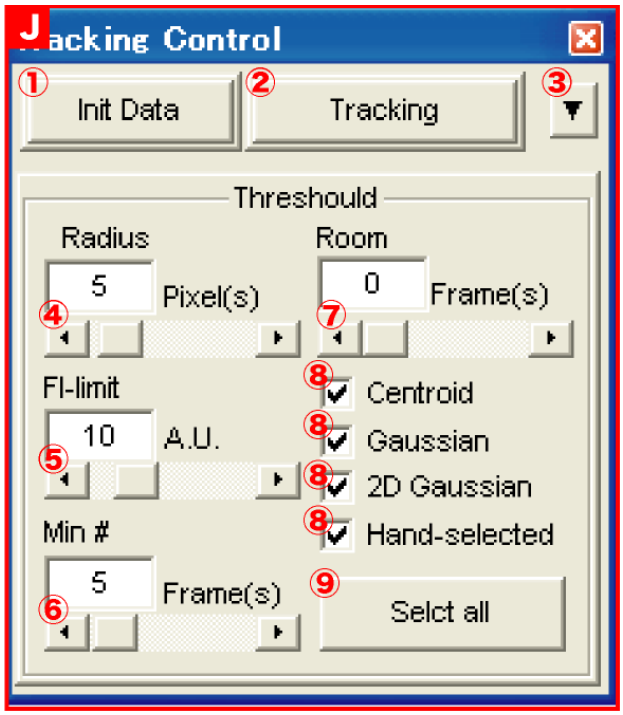
4.3.6 【Scale Control】パレット



①［pixel］テキストボックス、［frame］テキストボックス

解析に用いる動画のキャリブレーション値を入力します。

4.3.7 【Tracking Control】パレット



① [Init Data] ボタン

取得した全ての追跡データを消去します。

② [Tracking] ボタン

輝点を追跡し、追跡データを記録します。

③ [▼] ボタン

[Radius] スクロールバー、[FI-limit] スクロールバー、[Min #] スクロールバー、[Room] スクロールバー、[アルゴリズム] 選択チェックボックス、[Select all] ボタンを表示（非表示）します。

④ [Radius] スクロールバー

追跡データ取得の際の範囲(円)を設定します。範囲(円)の直径は(2n+1)となります。(Radius=n)
Radius は、輝点の大きさに合わせて設定して下さい。追跡できない場合には、Radius を大きく設定して下さい。

※追跡データの作成は、「計測」したデータを基にして行なわれます。[Radius] 値は、計測時に設定した [ROIsize] 設定値以下で設定してください。

⑤ [FI-limit] スクロールバー

輝点検索や輝点追跡の際に検出する蛍光強度の閾値を設定します。FI は Fluorescence Intensity を意味します。

⑥［Min # ］スクロールバー

輝点追跡の際のデータを記録するフレーム数を設定します。指定したフレーム数未満の追跡データは記録されません。
例）Min#を 4 に設定して解析を行った場合、4 未満の追跡データは記録されません。

⑦［Room］スクロールバー

追跡対象輝点が消えた際に、指定したフレーム数以内で輝点を再度認識した場合に同一輝点として追跡データを取得します。

⑧［アルゴリズム］選択チェックボックス

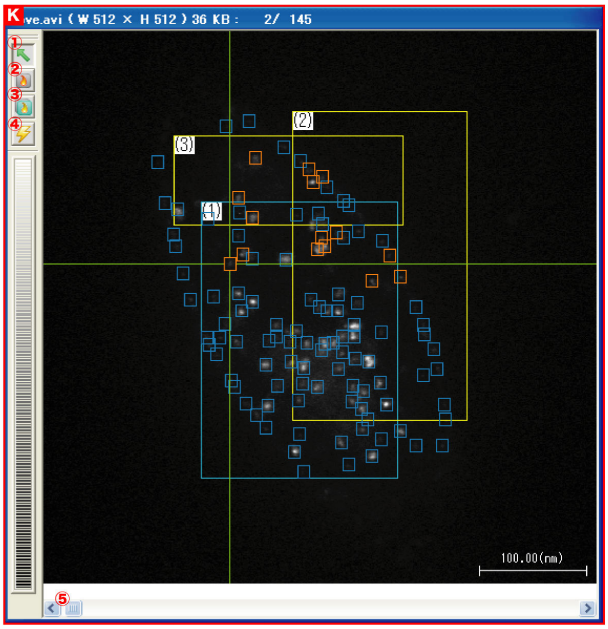
追跡データ作成の元となる計測データの、作成時に使用したアルゴリズム(Centroid、Gaussian、2D Gaussian、Hand-selected)を選択します。

⑨［Select all］ボタン

ボタンをクリックすると、[Centroid]、[Gaussian]、[2D Gaussian]、[Hand-selected] チェックボックスが全てオンになります。

4.4 【動画】ウィンドウ

4.4.1 名称と機能



※本ソフトウェアをご使用の PC・ディスプレイの性能により、格子状の縞模様が現れることがあります。これは、本ソフトウェアの解析性能に影響を与えるものではございません。格子状の縞模様は、動画を拡大することにより解消されます。

①［手動輝点選択］ボタン

輝点を計測する際、[動画ウィンドウ]上の任意の一輝点を選択するために使用します。

②［自動輝点選択］ボタン

輝点を計測する際、[動画ウィンドウ]上の任意の範囲を選択するために使用します。

③［輝点抽出］ボタン

輝点計測後に、計測範囲内の計測データを細かく確認する際、[動画ウィンドウ]上の計測範囲内で任意の範囲を選択するために使用します。

また輝点を追跡する際、[動画ウィンドウ]上の任意の範囲を選択するために使用します。

④［追跡確認］ボタン

任意の一輝点の追跡データを確認する際、[動画ウィンドウ]上の一輝点を選択するために使用します。

⑤［Frame #］スクロールバー

動画のフレームナンバーを、スクロールバーを操作して選択します。

4.4.2 【動画ウィンドウ】内での ROI 表記

［青色の ROI］

[動画ウィンドウ]上で、計測データを記録した輝点上に表示されます。ROI は Region Of Interest を意味します。

［オレンジ色の ROI］

[動画ウィンドウ]上で、追跡データを記録した輝点上に表示されます。ROI は Region Of Interest を意味します。

4.4.3 【動画ウィンドウ】内でのマウス操作

［クリック］

[動画ウィンドウ]内をクリックすると、輝点と認識した場合にのみ ROI により画像が選択されます。その際、ROI 内情報が［Raw Data in ROI］に表示されます。ROI 内の画像がガウシアンフィッティング出来る場合は、マウスアップ時に［GaussFit in ROI］にフィッティング結果が表示されます。（［Gaussian Fitting］、［2DGaussian Fitting］ボタンがオフ時でも表示されます。）

［右クリック］

[動画ウィンドウ]ショートカットメニューを表示します。

4.4.4 【動画ウィンドウ】ショートカットメニュー

①［スケールバーの表示/非表示］

[動画ウィンドウ]上のスケールバーの表示/非表示の切り替えを行います。

②［クリップボードにコピー］

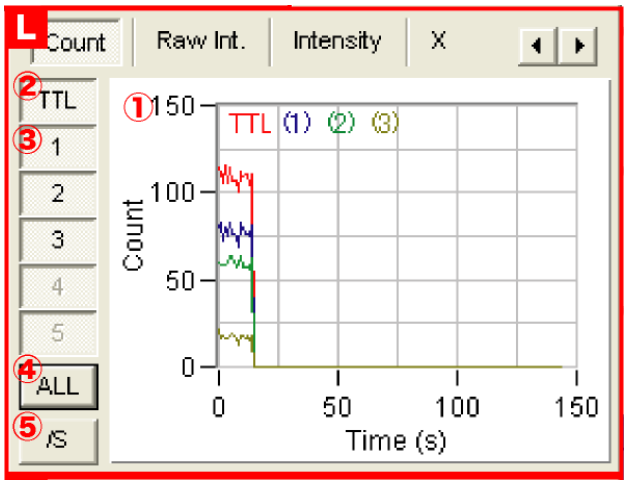
[動画ウィンドウ]に表示されている画像をクリップボードにコピーします。

③［BMP 画像として保存］

[動画ウィンドウ]に表示されている画像をビットマップ形式(.bmp)で保存します。

4.5 【Graph】パレット

4.5.1 名称と機能



①［時間変化グラフ］

計測した全フレームの計測データの時系列データ（Count、Raw Intensity、Intensity、X、Y、X SD、Y SD）を表示します。計測データの表示切り替えは［時間変化グラフ］タブをクリックして行ないます。

②［TTL］ボタン

最初に計測した範囲内の輝点の計測データを表示します。
※［輝点抽出］ボタンで抽出した範囲の計測データは表示されません。

③［1-5］ボタン

［輝点抽出］ボタンを使用して抽出した範囲の計測データを表示します。

④［All］ボタン

ボタンをクリックすると、全ての［時間変化グラフ］が表示されます。

⑤［/S］ボタン

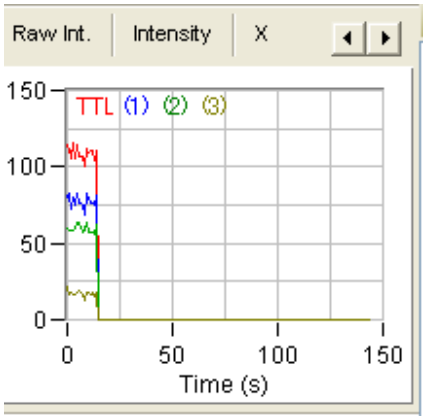
［時間変化グラフ］の縦軸の単位を切り替えます。Count、もしくは Count/Area(1/um~2)に切り替えることができます。

※［Intensity］は、選択アルゴリズムが Gauss Fitting,2D Gauss Fitting の場合はガウス分布の Intensity のピーク値の平均値を示し、選択アルゴリズムが Centroid の場合には ROI 中心の値から背景光を差し引いた値の平均値を示します。

※背景光は、ROI の辺を使って、一次平面で取得します。データとして取得していますが、記録はできません。

※[Raw Int]は、選択範囲内の輝点の［Raw Intensity 値−ROI 内の全ての Intensity の合計値］の平均値を示します。

4.5.2　［時間変化グラフ］上でのマウス操作



［ドラッグ］

［Graph］パレットの［時間変化グラフ］上をドラッグして範囲選択すると、選択範囲内のグラフを拡大することができます。

［ダブルクリック］

［Graph］パレットの［時間変化グラフ］上をグラフ拡大状態でダブルクリックすると、グラフを自動スケールすることができます。

［右クリック］

［Graph］パレットのショートカットメニューを表示します。

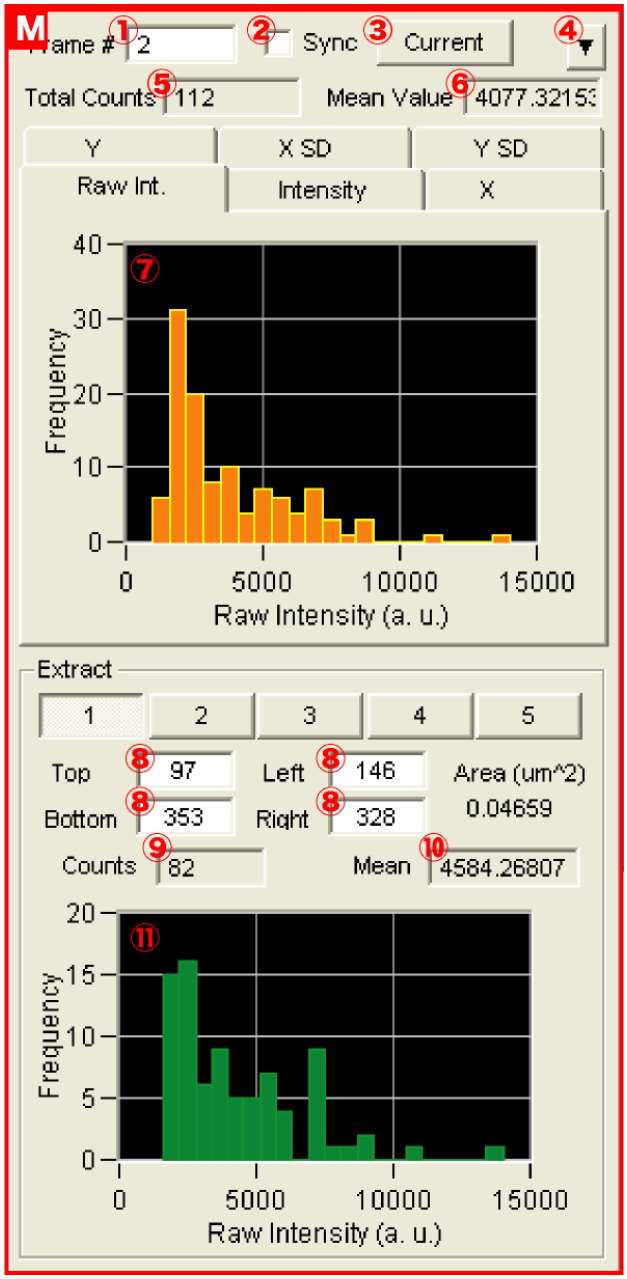
4.5.3　【Graph］パレット ショートカットメニュー

①[BMP 画像として保存]

［時間変化グラフ］をビットマップ形式（.bmp）で保存します。

4.6 【Histogram】パレット

4.6.1 名称と機能



① [Frame #] テキストボックス

記録された計測データのフレームナンバーを入力し、表示されるフレーム毎の計測データを変更します。

② [Sync] チェックボックス

チェックボックスオン時、[Frame #] テキストボックスで選択データを変更した際に、[動画ウィンドウ]のフレームが計測データの開始フレームと同期されて表示されます。

③［Current］ボタン

現在表示されているフレームの計測データを表示します。

④［▼］ボタン

［Extract グラフ］を表示（非表示）します。

⑤［Total Counts］ラベル

［Frame #］テキストボックスで指定したフレームの輝点数を表示します。

⑥［Mean Value］ラベル

［Frame #］テキストボックスで指定したフレームの、計測データ（X、Y、X SD、Y SD、Raw Intensity、Intensity）の平均値を表示します。各データの切り替えは［Single Image グラフ］タブをクリックして行ないます。

⑦［Single Image グラフ］

［Frame #］テキストボックスで指定したフレームの計測データ（X、Y、X SD、Y SD、Raw Intensity、Intensity）を表示します。各データの切り替えは［Single Image グラフ］タブをクリックして行ないます。

⑧［TOP］［Left］［Bottom］［Right］ラベル

［輝点抽出］ボタンで抽出した範囲の座標軸を表示します。

⑨［Counts］ラベル

［輝点抽出］ボタンで抽出した範囲の輝点数を表示します。

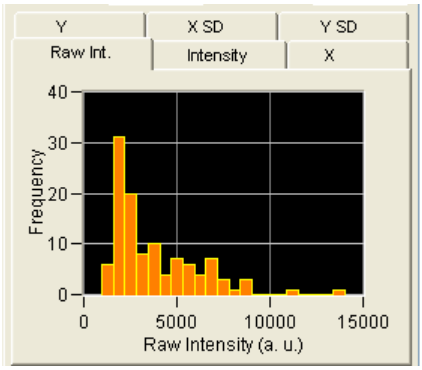
⑩［Mean］ラベル

［輝点抽出］ボタンで抽出した範囲の、平均値を表示します。

⑪［Extract グラフ］

［輝点抽出］ボタンで抽出した範囲の計測データ（X、Y、X SD、Y SD、Raw Intensity、Intensity）を表示します。計測データの表示切り替えは［Single Image グラフ］タブ、及び［1-5］ボタンをクリックして行ないます。

4.6.2 ［Single Image グラフ］上でのマウス操作



［ドラッグ］

［Histogram］パレットの［Single Image グラフ］上をドラッグして範囲選択すると、選択範囲内のグラフを拡大することができます。

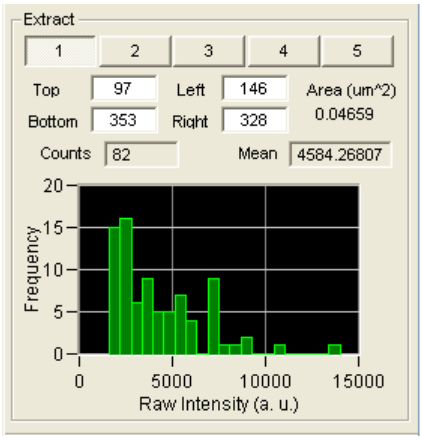
［ダブルクリック］

［Histogram］パレットの［Single Image グラフ］上をグラフ拡大状態でダブルクリックすると、グラフを自動スケールすることができます。

［右クリック］

［Histogram］パレットのショートカットメニューを表示します。

4.6.3 ［Extract グラフ］上でのマウス操作



［ドラッグ］

［Histogram］パレットの［Extract グラフ］上をドラッグして範囲選択すると、選択範囲内のグラフを拡大することができます。

［ダブルクリック］

［Histogram］パレットの［Extract グラフ］上をグラフ拡大状態でダブルクリックすると、グラフを自動スケールすることができます。

［右クリック］

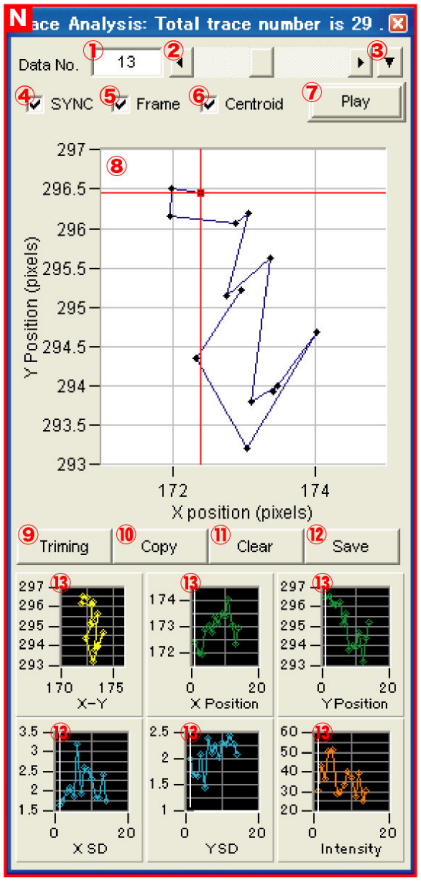
［Histogram］パレットのショートカットメニューを表示します。

4.6.4 【Histogram】パレット ショートカットメニュー

①[BMP 画像として保存]

［Single Image グラフ］、［Extract グラフ］をビットマップ形式（.bmp）で保存します。

4.7 【Trace Analysis】パレット



①［Data No.］テキストボックス

記録された追跡データのデータナンバーを入力します。

②［Data No.］スクロールバー

記録された追跡データのデータナンバーを、スクロールバーを操作して選択し、表示される追跡データを変更します。

③［▼］ボタン

［メイングラフ］、［サブグラフ］を表示（非表示）します。

④［SYNC］チェックボックス

チェックボックスオン時、［Data No.］スクロールバーで選択データ変更時に、［動画ウィンドウ］の表示フレームが追跡データの開始フレームと同期されて表示されます。

⑤［Frame］チェックボックス

チェックボックスオン時、選択された追跡データの［動画ウィンドウ］でのフレーム位置を、メイングラフでは赤色の十字カーソルで、サブグラフ上では白色の十字カーソルで表示します。

⑥［Centroid］チェックボックス

チェックボックスオン時、選択されている追跡データを［動画ウィンドウ］上に緑色の十字カーソルで表示します。

⑦［Play］ボタン

ボタンをクリックすることにより、選択された追跡データを追跡フレーム範囲内で繰り返し再生します。再度ボタンをクリックすると停止します。

⑧［メイングラフ］

選択された追跡データグラフを表示します。メイングラフをドラッグにより選択すると、選択範囲が拡大します。メイングラフをダブルクリックすると自動スケールされます。

⑨［Triming］ボタン

メイングラフに表示されている範囲の追跡データをトリミング(抽出)します。メイングラフに表示されている範囲のポイント数が［Tracking Control］の［Min #］で設定した値未満の場合、実行することができません。

⑩［Copy］ボタン

メイングラフに表示されている範囲の追跡データをトリミング(抽出)し、新しい追跡データとして追加します。メイングラフに表示されている範囲のポイント数が［Tracking Control］の［Min #］で設定した値未満の場合、実行することができません。

⑪［Clear］ボタン

選択された追跡データを削除します。

⑫［Save］ボタン

選択された追跡データ(Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、Y Position(pixels)、X SD(pixels)、Y SD(pixels)、Intensity(A.U.))を保存します。

⑬［サブグラフ］

選択された追跡データの 6 種類のグラフを表示します。［サブグラフ］上をダブルクリックすると、メイングラフに表示されます。

［X-Y グラフ］…選択された追跡データの X-Y Position を表示します。

［X Position グラフ］…選択された追跡データの X Position の時系列データを表示します。

［Y Position グラフ］…選択された追跡データの Y Position の時系列データを表示します。

［X SD グラフ］…［Gaussian］、［2D Gaussian］チェックボックスオン時、選択された追跡データの X 軸における標準偏差の時系列データを表示します。［Gaussian］、［2D Gaussian］チェックボックスオフ時には、X SD(pixels)は「1」で固定されています。

［Y SD グラフ］…［Gaussian］、［2D Gaussian］チェックボックスオン時、選択された追跡データの Y 軸における標準偏差の時系列データを表示します。［Gaussian］、［2D Gaussian］チェックボックスオフ時には、Y SD(pixels)は「1」で固定されています。

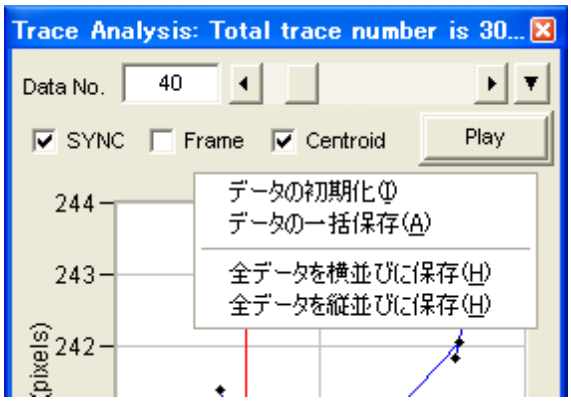
［Intensity グラフ］…選択された追跡データの蛍光強度の時系列データを表示します。

4.7.1 【Trace Analysis】パレット ショートカットメニュー

ポイント

■メニュー表示

［Trace Analysis］パレットのグラフ以外の場所を右クリック



①［データの初期化］

記録された追跡データ全てを初期化（削除）します。

②［データの一括保存］

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、Y Position(pixels)、X SD(pixels)、Y SD(pixels)、Intensity(A.U.)）を一括で保存します。

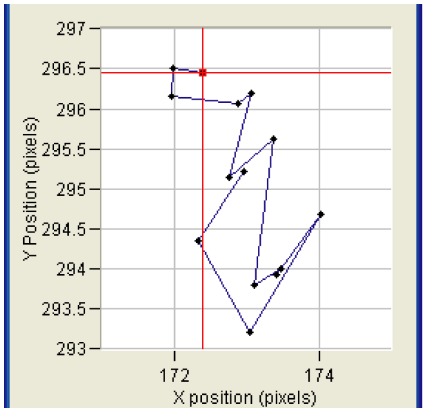
③［全データを横並びに保存］

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、 Y Position(pixels)、 X SD(pixels)、 Y SD(pixels)、 Intensity(A.U.)）を 1 つのファイル内に横並びに保存します。

④［全データを縦並びに保存］

記録された全ての追跡データ（Data No.、Frame No.、X Position(pixels)、 Y Position(pixels)、 X SD(pixels)、 Y SD(pixels)、 Intensity(A.U.)）を 1 つのファイル内に縦並びに保存します。

4.7.2 ［メイングラフ］上でのマウス操作



［ドラッグ］

［Trace Analysis］パレット［メイングラフ］上をドラッグして範囲選択すると、選択範囲内のグラフを拡大することができます。

［ダブルクリック］

［Trace Analysis］パレット［メイングラフ］上をグラフ拡大状態でダブルクリックすると、グラフを自動スケールすることができます。

［右クリック］

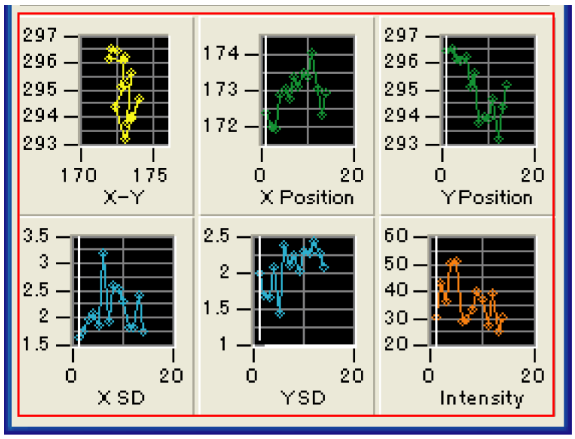
［メイングラフ］ショートカットメニューを表示します。

4.7.3 ［メイングラフ］ショートカットメニュー

①[BMP 画像として保存]

［メイングラフ］をビットマップ形式（.bmp）で保存します。

4.7.4　［サブグラフ］上でのマウス操作



［ダブルクリック］

［Trace Analysis］パレットで、任意の［サブグラフ］をダブルクリックすると、メイングラフが切り替わります。

5 FAQ・トラブルシューティング

5.1 ハードウェア USB キー

5.1.1 ハードウェア USB キーが正しく動作しない

本ソフトウェアに付属のハードウェア USB キーが正しく起動しない場合、下記の手順で再インストールしてください。

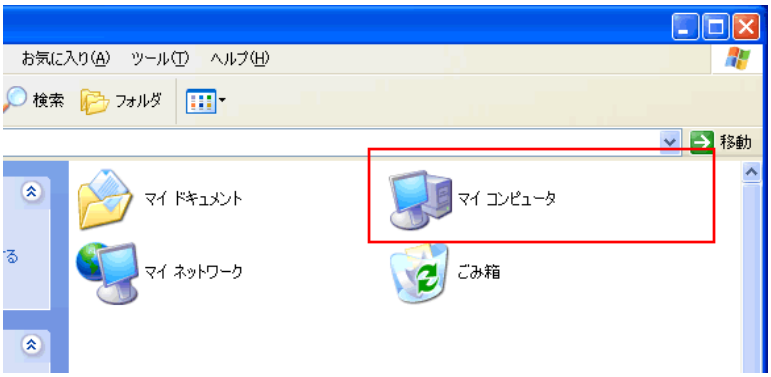
注意

■メニュー選択

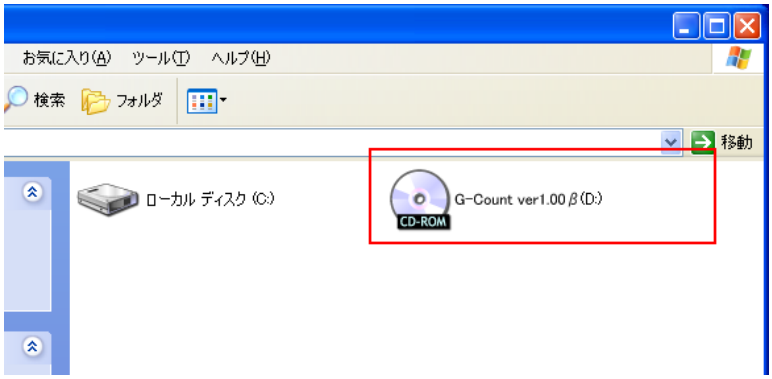
「G-Track」のハードウェア USB キー以外に、センチネルシステムドライバを使うハードウェアをご使用されている方は、それを利用されるソフトウェアのサポートへ最新版のドライバとの互換性があるかを確認してからインストールしてください。

1 CD-ROM ドライブに、本ソフトウェアデータディスクを挿入します。

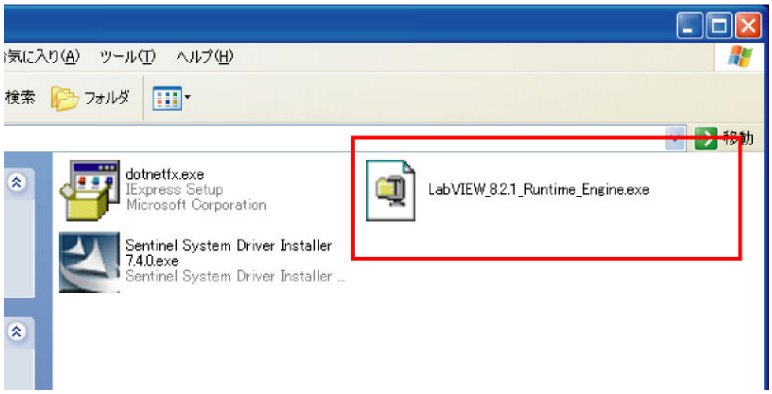
2 ［スタート］ボタン→［すべてのプログラム］→［アクセサリ］から［エクスプローラ］を選択して［マイコンピュータ］をダブルクリックします。



3 CD-ROM ドライブに、G-Count と表示されているのを確認してダブルクリックします。



4　ファイルの一覧から、Files フォルダをダブルクリックし、LabVIEW_8.2.1_Runtime_Engine.exe をダブルクリックします。LabVIEW ランタイムエンジンを画面の指示に従ってインストールを行います。



※インストール時には、ハードウェア USB キー（ドングル）を PC から取り外してください。

5.2 輝点選択・計測

5.2.1　輝点選択、計測時の速度が遅い

Speedy 設定にすることで速度が向上します。

注意

■Speedy 設定

Speedy では描画を行いません。画面に変化がありませんので、他の操作をしないようにご注意ください。

ビューツールバーの[Speedy]ボタンをクリックし、輝点を選択・計測を実行してください。

5.2.2　手動で記録したい

POINT

■単輝点解除

一つの輝点だけ解除したい場合は、左ドラッグしながら選択された輝点上で右クリックします。

［手動輝点選択］ボタンをクリック後、左ドラッグしながら任意の輝点上で右クリックします。

※アルゴリズムが輝点と認識しない場合は選択されません。

※アルゴリズム［Hand-selected］を選択した場合は、右クリックした場所が輝点として扱われます。

5.2.3　3D グラフの保存機能が動作しない

再度、[動画ウィンドウ]内をクリックし、ROI 内の情報をスキャンします。

※［Raw Data in ROI］3D グラフ、[GaussFit in ROI] 3D グラフは、[動画ウィンドウ]の[黄色の ROI]内の X,Y,I を 3D 表示します。

※計測実行直後など、[動画ウィンドウ]上に[黄色の ROI]が表示されていない場合は、保存機能が動作しません。

5.2.4　保存したパラメータ設定が読み込めない

コンフィグファイル(拡張子.cfg)に保存したパラメータ設定は、［ファイル］メニューの［既存の設定を読み込む］をクリックし、コンフィグファイルを読み込んだ後、プロジェクトを新規作成すると適応されます。

5.2.5　抽出時に取得するパラメータはどのような情報ですか？

輝点フィッティング時に下記パラメータを取得します。
a1 = ガウスのピーク値
a2,a3 = 中心座標
a4,a5 = ＳＤx,SDy
a6-a8 = 背景光(一次関数)

[centroid]の計算時は下記のパラメータです。
a1 = 中心座標のピクセル値　- 背景光
a2,a3 = 中心座標
a4,a5; ダミー値
a6-a8 = 背景光(一次関数)

5.2.6　アルゴリズムの特徴、採用基準は？

各アルゴリズムの説明、特徴、採用基準は以下の通りです。

※取得されたデータが、輝点であるか否かの判断は、ご利用者様ご自身でご確認ください。

■Centroid
〇アルゴリズム解説
・重心位置における中心の輝度を閾値として、輝点か否かを判断
〇特徴
・計算が簡単である為、処理速度が速い
・理想輝点でなくても、重心位置を計算できる
・ノイズが多い場合に精度が低く、ROI の大きさ、背景光で解が変化する
〇採用基準
・背景と輝点の明度差が大きく、輝点が円でない場合

■Gaussian Fitting
〇アルゴリズム解説
・ＸＹ平面それぞれにおける投影図を利用し、重心位置を計算
〇特徴
・楕円形輝点近似に優位
・処理速度が速い
・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能
・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能
・ノイズに弱い
〇採用基準
・背景と輝点の明度差が少ないが、輝点が明るく明らかな場合

■2D Gaussian Fitting
〇アルゴリズム解説
・二次元ガウス関数で近似
〇特徴
・高精度での解析可能
・照明班の影響を受けにくく、画像処理せずに解析可能
・輝点の強度、輝点の広がり、位置を取得可能
・反復法であるため、計算に時間を有する
〇採用基準
・背景と輝点の明度差が少ないが、輝点がノイジックな場合
・正確性をあげたい場合

5.3 その他

5.3.1 G-Count と G-Track の違いについて

輝点計測(カウンティング)に特化したソフトウェアが G-Count、輝点追跡に特化したソフトウェアが G-Track です。

設計コンセプト、用途と処理の流れは下記のとおりです

双方共通のコンセプト

・輝点を抽出し解析する際の手間を軽減し、ユーザーの時間節約に役立てる。
・2 値化(閾値法)などの画像処理を行わない新しいアルゴリズムにより、細胞内など背景光に斑がある場合でも、粒子の像を抽出できる。
・近似計算の反復数を、～十回程度にまで減少させ、計算スピードを向上。
・上記により、網羅的輝点抽出が可能である。

輝点計測ソフト G-Count

〇コンセプト

動画内における、輝点を全て抽出し、データベース化する。

〇用途

・蛋白質 1 分子の個数解析、短い運動の解析、細胞のカウントなど。
・追跡対象が多く(～1000 個)、追跡時間がせいぜい～100 フレームの場合に有効。
(画像を網羅的にスキャンするので、輝点が 1 点でも 100 点でも計算スピードは変わらない)

〇解析の流れ

動画内における、輝点を全て抽出し、データベース化する→フレーム毎の統計解析
↓
それを元に時間的に連続している輝点を繋げて行く(この動作で追跡と同じ効果)
↓
解析

輝点追跡ソフト G-Track

〇コンセプト
蛍光輝点(像)の位置をフレームを追って『追跡する』。

〇用途
・蛋白質 1 分子の運動解析、小胞輸送、細胞運動の追跡など。
・追跡対象が少なく(～100 個)、追跡時間が数百から数千フレームに及ぶ場合に有効。

〇解析の流れ
一つの蛍光像の運動を、追跡し、数値データとする
↓
それを何度も繰り返し、データ群を作る
↓
統計解析

（Ｃ）2008 G-Angstrom　　平成２１年５月２０日改訂
本書の内容の一部、または全部を株式会社ジーオングストロームの許可なく複製、送信、複写することを禁じます。